

UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE
ECOLE DOCTORALE SMAE
&
UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CHILE
DEPARTAMENTO DE FÍSICA

Thèse de doctorat

Spécialité : Physique acoustique et sciences physiques

**Relation entre la structure et les propriétés acoustiques
des agents de contraste ultrasonores et leur utilisation
comme vecteur de médicaments**

par

Belfor Galaz

Thèse dirigée par *Wladimir Urbach & Jean-Jacques Ammann*

Soutenue le 13 de janvier 2009

Devant le jury composé de :

M. Enrique Cerda	Professeur à l'Universidad de Santiago de Chile	Président
M. Jean-Jacques Ammann	Professeur à l'Universidad de Santiago de Chile	Co-directeur
M. Pascal Chalande	Professeur à l'Université Pierre et Marie Curie, Paris	Examineur
M. Guillaume Haiat	Chargé de Recherche au CNRS	Examineur
M. Jean-Yves Le Huérou	Professeur à l'Université de Cergy-Pontoise	Rapporteur
M. Fernando Lund	Professeur à l'Universidad de Chile, Santiago	Rapporteur
M. Wladimir Urbach	Professeur à l'Université Paris Descartes	Co-directeur

Résumé

Ces travaux de recherche ont pour objectif d'établir des relations entre les paramètres acoustiques et les caractéristiques d'un nouvel Agent de Contraste Ultrasonore (*ACU*) composé d'une coque polymérique encapsulant un fluide perfluoré.

Nous utilisons le rapport signal sur bruit pour estimer le rehaussement de contraste. Nous simulons la réponse acoustique pour étudier la diffusion, l'atténuation et la vitesse de propagation de l'onde.

L'étude est effectuée à 50 MHz, sur des particules de diamètre compris entre 150 nm et 6 μm , dispersées dans de l'eau distillée. Pour des particules de petite taille par rapport à la longueur d'onde et des concentrations étudiées, nous pouvons utiliser les théories de diffusion simple pour estimer le rapport signal sur bruit. Ces modèles établis pour une particule isolée permettent de valider notre approche. Nos simulations permettent, également, d'évaluer les effets de l'épaisseur, des propriétés mécaniques de la coque polymérique et du cœur liquide.

A terme, la caractérisation des propriétés acoustiques de cet *ACU* vise à optimiser les processus de sa fabrication afin de produire un rehaussement de contraste plus efficace.

Mots-clés : agents de contraste ultrasonore, ACU, rehaussement de contraste ultrasonore, diffusion acoustique par sphères, simulation propagation d'ondes de pression, cargo de médicaments.

Resumen

El trabajo presentado aquí tiene la finalidad de estudiar la relación existente entre las propiedades acústicas (ecogeneidad) y las características estructurales y mecánicas, de un nuevo Agente de Contraste Ultrasónico (*ACU*). Estas partículas son destinadas a ser utilizadas como agentes terapéuticos y encierran un principio activo que podrá ser liberado en un sitio específico del sistema circulatorio bajo el efecto de insonicación ultrasónica. Este nuevo tipo de *ACU* está compuesto por una capsula polimérica que encierra un núcleo líquido perfluorado. La presencia de la capsula de polímero biodegradable y biocompatible favorece la estabilidad del producto, mientras que el núcleo perfluorado asegura su ecogeneidad. La caracterización de las propiedades acústicas de este *ACU* pretende optimizar los procesos de su fabricación con el fin de producir un realce de contraste más eficiente sobre la pantalla ecográfica a un nivel mínimo de dosificación.

Si en el dominio de la física acústica, la ecogeneidad de este tipo de partículas es descrita en términos de coeficiente de retro-dispersión, en este trabajo utilizaremos un parámetro de realce de contraste, definido como la razón señal sobre ruido (SNR_p), para guardar así una relación directa con efecto real que van a producir estas partículas sobre la pantalla ecográfica en respuesta a su inyección. Entre otros aspectos, este parámetro será estudiado en función de la concentración en masa de partículas que puede fácilmente ser relacionado con los valores convencionales de dosificación. También proponemos una modelización de este parámetro, que permitirá hacer un enlace directo con las teorías de difusión simple, de manera que estas teorías puedan ser utilizadas para estimar el realce de contraste generado por este tipo de *ACU*.

Por otro lado, si bien los modelos teóricos de difusión acústica pueden describir relativamente bien el comportamiento de una partícula aislada, en ciertos casos, no son adecuados para describir la respuesta acústica de una distribución de tales partículas. Para abordar estos problemas, utilizaremos una herramienta de cálculo numérico (*SimSonic*) basada en un concepto de diferencias finitas, desarrollado previamente en el *Laboratoire d'Imagerie Paramétrique*. Este código, nos permitirá estudiar los procesos de difusión así como otros parámetros acústicos tales como la atenuación y la velocidad efectiva de propagación, en una distribución aleatoria de partículas. También utilizaremos este código para evaluar los efectos asociados con la variación del espesor y de las propiedades mecánicas de la cápsula polimérica. En ciertos casos, nuestros resultados serán confrontados con los modelos teóricos existentes.

Nuestro estudio se realizara en el dominio de las altas frecuencias (50 MHz) para partículas de tamaño promedio comprendido entre 150 nm y 6 μ m de diámetro, dispersas en agua destilada a una concentración máxima de 50 mg/ml. Mostraremos que el comportamiento del tipo Rayleigh, predicho teóricamente para partículas homogéneas de tamaño pequeño en la relación a la longitud de onda, se conserva y que su efecto predomina sobre el efecto de la concentración. También mostraremos que en el dominio de concentraciones utilizadas no hay suficiente evidencia sobre la presencia de fenómenos tales como la dispersión múltiple y la atenuación, permitiéndonos así usar las teorías de dispersión simple para estimar el realce de contraste. Por otro lado, mostraremos que el efecto de la variación del espesor de la cápsula es un fenómeno complejo que depende del tamaño de la partícula, y que puede también depender de las propiedades mecánicas de la cápsula y núcleo líquido.

Palabras clave: Agentes de Contraste Ultrasónicos, *ACU*, realce de contraste ultrasónico, dispersión acústica por esferas.

Abstract

The objective of the work presented here is to study the relationship between the acoustic properties (echogenicity) and structural and mechanical characteristics of a new Ultrasound Contrast Agent (*UCA*). These particles are designed to be used as therapeutic agents and enclose an active ingredient which can be released into a specific site of the circulatory system under the action of ultrasound insonication. This new type of *ACU* is composed of a polymer shell encapsulating a core of perfluorocarbon fluid. The presence of the shell of biodegradable and biocompatible polymer improve the stability of the product, while the perfluorocarbon core must ensure its echogenicity. The characterization of acoustic properties of the *ACU* is intended to optimize its manufacturing process to produce a contrast enhancement more effective on the ultrasound screen to a minimum level of dosage.

While, in the field of physical acoustics, the echogenicity of such particles is described in terms of the backscattering coefficient, in this work we use a contrast enhancement parameter, defined as the signal to noise ratio (SNR_p) to keep a direct relationship with the real effect that these particles will produce on the ultrasound screen after administration. Among other things, this will be studied depending on the weight concentration of particles that can be easily reduced to the values of conventional dosage. We also propose a model of this setting, which will make a direct connection with the theories of single scattering, so that these theories can be used to estimate the contrast enhancement generated by this type of *ACU*.

Moreover, even if the theoretical models of acoustic scattering may well describe the behavior of a single particle, in some cases they are not adequate to describe the acoustic response of a distribution of such particles. To address these problems, we use a numerical tool (*SimSonic*) based on a concept of finite differences, developed in advance in the *Laboratoire d'Imagerie Paramétrique*. The code, we will study the scattering process and other acoustic parameters such as attenuation and the effective sound speed of wave propagation in random distribution of particles. We will also use this code to assess the effects associated with changes in the thickness and mechanical properties of the polymer capsule. In some cases, our results will be confronted with existing theoretical models.

Our study will be conducted at the high frequencies (50 MHz) for particles of average size between 150 nm and 6 μm in diameter spread in distilled water at maximal concentration of 50 mg/ml. We will show that the Rayleigh type behavior, theoretically predicted for homogeneous particle with a small size in relation to the wavelength, is conserved and it is predominant regarding the effect of the concentration. We will show also that in the domain of concentrations commonly used, there is insufficient evidence on the presence of phenomena such as multiple scattering and attenuation, thereby allowing us to use the theories of single scattering for estimating the contrast enhancement. On the other hand, we will show that the effect of varying the thickness of the capsule is a complex phenomenon that depends of the size of the particle, and also, of the mechanical properties of the capsule and liquid core.

Keywords: Ultrasonic Contrast Agents, UCA, Ultrasound Contrast Enhancement, acoustic scattering by spheres.

Agradecimientos

Quiero agradecer fuertemente a la Universidad de Santiago de Chile (USACH) y particularmente al Departamento de Física por darme la oportunidad de efectuar mis estudios de pre y postgrado. De esta institución, me gustaría agradecer en forma muy especial al Profesor Jean-Jacques Ammann quien además de haber sido mi co-director de tesis en Chile, participo muy activamente desde mis primeros años en la USACH en mi formación como científico, siendo quien me introdujera en el mundo de los ultrasonidos y me incentivara posteriormente a realizar mis estudios de postgrado.

También debo agradecer al personal del Laboratoire d'Imagerie Paramétrique, por el apoyo brindado durante el desarrollo de mi tesis. En forma muy especial quiero agradecer al Profesor Wladimir Urbach quien fue mi co-director de tesis en Francia y al grupo de trabajo con el cual tuve el agrado de trabajar durante mi estadía en Francia, especialmente al Profesor Jean-Yves Le Huérou y al Dr. Nicolas Taulier por su ardua colaboración en el desarrollo de mi manuscrito. Quiero agradecer también al Dr. Guillaume Haïat por todo su colaboración en la realización del estudio numérico, el cual fue una parte fundamental en el desarrollo de mi tesis.

Me gustaría también agradecer a la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica del Gobierno de Chile (CONICYT) y al proyecto de colaboración científica Chile-Francia ECOS, por el apoyo financiero otorgado para realizar mis estudios de postgrado.

Quiero agradecer muy especialmente, al Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (DICYT) y su directora, la Dra. Dora Altbir por el apoyo otorgado, el cual me permitió finalizar mi trabajo de tesis.

Finalmente, me gustaría agradecer de forma muy especial a mi familia y amigos por todo su apoyo otorgado durante mis años en la Universidad.

SOMMAIRE

CHAPITRE 1 : INTRODUCTION.....	1
1.1. LES ACU ET LA VECTORISATION DE MEDICAMENTS	2
1.1.1. Ciblage passif.....	3
1.1.2. Ciblage actif.....	3
1.2. PLAN DU MEMOIRE.....	5
CHAPITRE 2 : REPONSE ACOUSTIQUE DE DIFFUSEURS HOMOGENES	7
2.1. DIFFUSION D'UNE SPHERE NON-RIGIDE (ELASTIQUE, LIQUIDE OU GAZEUSE) HOMOGENE.	7
2.2. DIFFUSION PAR UN CYLINDRE OU UNE SPHERE HOMOGENE. MODELE DE FARAN ...	9
2.2.1 Propagation de l'onde incidente avant la rencontre de l'obstacle.....	10
2.2.2 Propagation de l'onde dans l'obstacle	11
2.2.3 Propagation de l'onde après sa sortie de l'obstacle	13
2.2.4 Conditions aux bords. Solution du système	13
2.2.5 Comparaison avec l'expérience.....	17
2.2.6 Cas particuliers.....	17
2.3. DISTRIBUTION DE PARTICULES : APPROXIMATION POUR DE FAIBLES CONCENTRATIONS	19
2.3.1 Section efficace différentielle de rétrodiffusion.....	19
2.3.2 Coefficient de rétrodiffusion	20
2.4. L'ATTENUATION : EFFET DE L'AUGMENTATION DE LA CONCENTRATION	21
2.4.1 Atténuation par absorption.....	22
2.4.2 Atténuation par diffusion	24
2.5. MODIFICATIONS DU MODELE DE FARAN	25
2.5.1 Modifications au problème de Faran pour inclure une coque solide élastique	25
2.5.2 Incorporation des pertes dissipatives dans le calcul de l'atténuation.....	25
2.5.3 Incorporation des propriétés viscoélastiques de la coque de PLGA.....	26
2.6. MODELISATION DU PARAMETRE DE REHAUSSEMENT DU SIGNAL RETRODIFFUSE – SNR.....	26
2.6.1 Puissance, énergie des signaux.....	26
2.6.2 Définition du paramètre de rehaussement SNR.....	28
2.6.3 Modélisation du signal rétrodiffusé.....	29
2.7. CONCLUSION.....	31

CHAPITRE 3 : MATERIAUX ET METHODES33

3.1	MATERIAUX : MICRO ET NANOPARTICULES DE PLGA A CŒUR LIQUIDE	33
3.1.1	<i>Les ingrédients</i>	34
3.1.2	<i>Fabrication des particules</i>	35
3.2	METHODES EXPERIMENTALES - IN VITRO	38
3.2.1	<i>Dispositif expérimental</i>	39
3.3	SIMULATION NUMERIQUE DE LA REPONSE ACOUSTIQUE DES ACU	46
3.3.1	<i>Base théorique du code : schéma de Virieux</i>	46
3.3.2	<i>Le logiciel SimSonic</i>	48
3.3.3	<i>Description de la cartographie 2D</i>	49
3.3.4	<i>Propriétés physiques des ACU</i>	52
3.4	TRAITEMENT DES DONNEES	53
3.4.1	<i>Processus de validation : disques isolés homogènes</i>	53
3.4.2	<i>Disque d'ACU isolé</i>	54
3.4.3	<i>Distribution aléatoire d'ACU</i>	54
3.5	OPTIMISATION DES SIGNAUX ET CARACTERISTIQUES DU BRUIT	60
3.6	CONCLUSION	61

CHAPITRE 4 : RESULTATS IN VITRO63

4.1.	INTRODUCTION	63
4.2.	PARTICULES HOMOGENES. COMPARAISON AVEC LE MODELE DE FARAN	63
4.1.1	<i>Particules de polystyrène de rayon $R = 0,5 \mu m$</i>	63
4.1.2	<i>Particules de PLGA</i>	67
4.3.	SOLUTIONS D'ACU A CŒUR LIQUIDE	76
4.1.3	<i>Reproductibilité du processus de fabrication</i>	76
4.4.	CONCLUSION	81

CHAPITRE 5 : RESULTATS IN SILICO. ETUDE NUMERIQUE DE LA REPONSE ACOUSTIQUE DES ACU.....83

5.1	INTRODUCTION	83
5.2	UNE PARTICULE HOMOGENE	85
5.3	UNE PARTICULE D'ACU	86
5.3.1	<i>Variation de la taille</i>	87
5.3.2	<i>Variation du rapport d'épaisseur T/R</i>	91
5.3.3	<i>Influence de la masse volumique du PLGA</i>	96
5.3.4	<i>Influence de la compressibilité du PLGA</i>	96
5.4	CONCLUSION	98
5.5	UNE DISTRIBUTION ALEATOIRE D'ACU	98
5.6	ONDES DIFFUSEES SECONDAIRES	113

CHAPITRE 6 : BILAN ET CONCLUSIONS..... 115

6.1	BILAN GENERAL	115
6.1.1	<i>Le paramètre de rehaussement.....</i>	<i>115</i>
6.1.2	<i>Particules homogènes.....</i>	<i>116</i>
6.1.3	<i>Particules d'ACU</i>	<i>116</i>
6.2	CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	118

ANNEXE 1 : AGENTS DE CONTRASTE ULTRASONORE I

ANNEXE 2 : OPTIMISATION DES SIGNAUX ET CARACTERISTIQUES DU BRUIT III

1.	OPTIMISATION DES PARAMETRES DE TRAITEMENT DE SIGNAL	III
1.1.	<i>Bande passante de la sonde</i>	<i>iii</i>
1.2.	<i>Calcul des spectres de puissance rétrodiffusés.....</i>	<i>iv</i>
1.3.	<i>Sédimentation. Mesures du rehaussement du signal rétrodiffusé par des particules d'ACU.</i>	<i>viii</i>
2.	CARACTERISTIQUES DU BRUIT	XI
2.1.	<i>Différence entre ζ et ζ'</i>	<i>xii</i>
2.2.	<i>Bruit blanc ?</i>	<i>xii</i>
3.	CALCULS COMPLEMENTAIRES.....	XIV
3.1.	<i>Estimation des pertes de l'intensité incidente due à la divergence du faisceau acoustique</i>	<i>xiv</i>

ANNEXE 3 : ONDES DIFFUSEES SECONDAIRESXVII

1	REFLEXIONS INTERNES ET ONDES DE SURFACE	XVII
1.1	<i>Réflexions internes de premier ordre.....</i>	<i>xviii</i>
1.2	<i>Ondes de surface.....</i>	<i>xix</i>
1.3	<i>Implémentation</i>	<i>xxi</i>
2	RESULTATS	XXII
2.1	<i>Disque isolé de PFOB de $R = 3 \mu\text{m}$ avec $T/R = 0$.....</i>	<i>xxii</i>
2.2	<i>Disque isolé d'ACU de $R = 3 \mu\text{m}$ avec $T/R = 0,35$</i>	<i>xxv</i>
2.3	<i>Disque isolé de PLGA de $R = 3 \mu\text{m}$ avec $T/R = 1$</i>	<i>xxvii</i>
2.4	<i>Disque isolé de PFOB de $R = 10 \mu\text{m}$ avec $T/R = 0$.....</i>	<i>xxix</i>
2.5	<i>Disque isolé d'ACU de $R = 10 \mu\text{m}$ avec $T/R = 0,35$</i>	<i>xxxii</i>
2.6	<i>Disque isolé de PLGA de $R = 10 \mu\text{m}$ avec $T/R = 1$</i>	<i>xxxiv</i>
3	REFLEXIONS INTERNES : COEFFICIENT DE REFLEXION ET TRANSMISSION	XXXVII
3.1	<i>Particule simple ($T/R = 0$ et 1)</i>	<i>xxxvii</i>
3.2	<i>Particule mixte (ACU).....</i>	<i>xxxiv</i>
4	DISCUSSION	XLI
5	CONCLUSIONS.....	XLI

Glossaire

Symbole	Désignation
a	Rayon de la sonde
b	Largeur du volume effectif
$c_{\parallel,0}$	Vitesse des ondes de compression dans le milieu externe à la particule (eau)
c_0	Vitesse de l'onde ultrasonore dans le liquide
c_{\parallel}	Vitesse des ondes de compression (ou longitudinal) dans la particule ou le cylindre diffuseur
c_{\perp}	Vitesse des ondes de cisaillement (ou transversal) dans la particule ou le cylindre diffuseur
$c_{\parallel,q}$	Vitesse longitudinale au nœud d'indice q
$c_{\perp,q}$	Vitesse transversale au nœud d'indice q
c_{eff}	Vitesse effective de propagation
c_j	Signal temporel numérisé
d	Distance entre la barrette réceptrice ponctuelle et le disque d'ACU
d_{m2d}	Distance moyenne de centre à centre entre particules (ou libre parcours moyenne) en 2D
d_{m3d}	Distance moyenne de centre à centre entre particules (ou libre parcours moyenne) en 3D
f	Fréquence
f_0	Fréquence centrale du signal émis par la sonde ou barrette source
f_k	Tableau des fréquences
h	Paramètre de Hann du filtre temporel de Tukey
$j_m(kr_0) + in_m(kr_0)$	$h_m^{(1)}(kr_0) = j_m(kr_0) + in_m(kr_0)$: fonctions sphériques de Hankel de première espèce d'ordre m
$i = \sqrt{-1}$	Unité imaginaire
$j_m(kr_0)$	Fonction sphériques de Bessel de première espèce d'ordre m
$k_0 = \frac{2\pi}{\lambda_0} = \frac{2\pi f}{c_{\parallel,0}}$	Vecteur d'onde de l'onde de pression incidente
$k_{\parallel} = \frac{2\pi f}{c_{\parallel}}$	Vecteur d'onde de compression dans le particule ou cylindre diffuseur
$k_{\perp} = \frac{2\pi f}{c_{\perp}}$	Vecteur d'onde de cisaillement dans le particule ou cylindre diffuseur

l_0	Distance entre la sonde et la particule isolée
$n = \frac{N}{V_{eff}}$	Concentration en nombre de particules par unité de volume (ou densité de particules)
n'	Nombre total de disques par unité de volume
n_d	Dimension de la simulation
$n_m(kr_0)$	Fonctions sphériques de Bessel de deuxième espèce d'ordre m
p	Pression
p_i	Pression de l'onde d'incidente
$p_s(r, \theta)$	Ondes de pression diffusées
t	Temps
t_{max}	Durée maximale des simulations
\vec{u}	Vecteur déplacement
u	Déplacement
u_r, u_θ, u_z	Coordonnées cylindriques du vecteur déplacement \vec{u}
u_r, u_θ, u_ϕ	Coordonnées sphériques du vecteur déplacement \vec{u}
$u_{i,r}$	Composante radiale du déplacement de l'onde incidente
$u_{i,s}$	Composante radiale du déplacement de l'onde diffusée
\vec{v}	Vecteur vitesse de déplacement
w_j	Amplitude du filtre temporel (ou fenêtre temporelle)
x	Direction de l'onde incidente (cas sphérique)
$x(t)$	Signal temporel
$x_b(t)$	Signal de référence
$x_0 = k_0 R$	Paramètre longueur d'onde / taille de la particule
$x_{ } = k_{ } R$	Paramètre longueur d'onde / taille de la particule
$x_{\perp} = k_{\perp} R$	Paramètre longueur d'onde / taille de la particule
$v_{rd}(t)$	Signal (sans bruit) rétrodiffusé
z_0'	Distance interface-centre du volume effectif
z	Direction de l'onde incidente (cas cylindrique)
r, θ, z	Coordonnées cylindriques
r, θ, ϕ	Coordonnées sphériques
x, y, z	Coordonnées cartésiennes
\vec{A}	Potentiel vecteur

A_r, A_θ, A_z	Coordonnées cylindriques du potentiel vecteur \vec{A}
A_r, A_θ, A_ϕ	Coordonnées sphériques du potentiel vecteur \vec{A}
A_m, B_m et C_m	Coefficients de développement des ondes de compression et cisaillement dans la particule ou cylindre diffuseur, et des ondes de compression diffusés
$B = \rho c_{\parallel}^2 = \kappa^{-1}$	Module de rigidité
C	Concentration en poids de particules par unité de volume
\vec{C}	Tenseur de rigidité
D_k	Transformée de Fourier discrète
E	Module de Young de la particule ou cylindre diffuseur
$F(\alpha(f), z_0, L)$	Compensation des pertes
$H_m^{(1)}(kr_0)$	$H_m^{(1)}(kr_0) = J_m(kr_0) + iN_m(kr_0)$: fonctions de Hankel de première espèce d'ordre m
I	Intensité de l'onde
I_0	Intensité de l'onde d'incidente
$I_s = \frac{ p_s ^2}{2\rho_0 c_{\parallel,0}}$	Intensité diffusée
$J_m(kr_0)$	Fonction de Bessel de première espèce d'ordre m
L	Longueur du volume effectif
L_c	Taille de la carte maximale des simulations
M	Nombre des spectres moyennés
M_{ACU}	Masse d'une particule d'ACU
$M_{i,j}$	Matrice de nombre entiers q pour identifier les propriétés physiques dans chaque nœuds (i, j) de la carte
N	Nombre moyen de particules
N'	Concentration équivalente en nombre total de disques par unité de volume
$N_m(kr_0)$	Fonction de Bessel de deuxième espèce d'ordre m
N_s	Taille du vecteur $[c_j]$
N_d	Nombre des distributions ou configurations équivalentes
P_0	Amplitude de l'onde d'incidente
$P_m(\cos(\theta))$	Polynôme de Legendre en fonction θ
P_{rd}	Puissance rétrodiffusé reçue par une sonde circulaire

P_s	Pression acoustique diffusée
PTR	Puissance totale du signal rétrodiffusé relative à la puissance totale du signal incident
$PSD(f)$	Densité spectrale de puissance
$PSD_x(f)$	Densité spectrale de puissance du signal $x(t)$
$PSD_s(f_k)$	Densité spectrale de puissance du signal rétrodiffusé (ou signal)
$PSD_b(f_k)$	Densité spectrale de puissance du signal de référence (ou bruit)
$PSD_p(f)$	Densité spectrale de puissance de la plaque de référence
P_0	Amplitude de l'onde de pression incidente
$P_0(\)$	Signal incident enregistré lors des simulations
$P_{diff}(\)$	Signal diffusé enregistré lors des simulations
$P_{trans}(\)$	Signal transmis enregistré lors des simulations
$\hat{P}_0, \hat{P}_{diff, \theta=\pi}$	Intégration dans la bande passante de la puissance du signal incident et du signal rétrodiffusé
R	Rayon de la particule ou cylindre diffuseur
R_p	Coefficient de réflexion de la plaque métallique
S	Surface
$\langle S(f) ^2 \rangle$	Rapport entre la composante incohérente du signal rétrodiffusé et le spectre du signal reflété par la plaque métallique
$S_{xx}(f)$	Transformée de Fourier de $S_{xx}(t)$
$S_{xx}(t)$	Fonction d'auto-corrélation du signal $x(t)$
$\overline{SNR_p}$	Rapport signal sur bruit moyenné sur la bande passante de la sonde
$SNR_p(f_k)$	Rapport signal sur bruit en fonction de la fréquence
$SNR_{pu}(f_k)$	Rapport signal sur bruit unitaire (ou par particule) en fonction de la fréquence
T ou e	Epaisseur de la capsule
\vec{T}	Tenseur des contraintes
T_0	Durée du signal incident
T_{ci}	Temps de coupure inférieur du filtre temporel du signal diffusé utilisé ans les simulations
T_{cs}	Temps de coupure supérieur et longueur du filtre temporel du signal diffusé utilisé dans les simulations
$V_{eff} = \pi b^2 L$	Volume effectif avec particules ou éléments diffuseurs

V_{\max}	Vitesse maximale de propagation (point de vue simulation)
W_{ss}	Facteur de normalisation de la <i>PSD</i> selon le filtre temporel utilisé
$X(f)$	Transformée de Fourier de $x(t)$
Z_0	Distance sonde-centre du volume effectif
Z_F	Distance focale
α	Atténuation totale
α_a	Atténuation par absorption
α_s	Atténuation par diffusion
$\alpha_m(x), \beta_m(x), \delta_m(x)$	Angles de phase des ondes diffusées
$\delta(t)$	Impulsion de Dirac
β	Coefficient lié à l'atténuation et la dépendance en fréquence
γ	Puissance de l'atténuation en fonction de la fréquence
η_m	Déphasage entre des propriétés élastiques et physiques de l'obstacle
ε_m	Facteur de Neumann $\varepsilon_0 = 1$ et $\varepsilon_m = 2$ pour $m > 0$
ϕ^v	Fraction volumétrique de particules
ϕ^s	Fraction superficielle de particules
ϕ_{PFOB}^s	Fraction superficielle de <i>PFOB</i> dans un disque d' <i>ACU</i>
η_{rd}	Coefficient de rétrodiffusion
λ_0	Longueur d'onde de l'onde de pression incidente
$\lambda_{diff}, \mu_{diff}$	Coefficients de Lamé de la particule ou du cylindre diffuseur
λ_q, μ_q	Coefficients de Lamé dans à nœud d'indice q
κ	Compressibilité
κ_0	Compressibilité du milieu externe à la particule (eau)
κ_{diff}	Compressibilité de la particule ou cylindre diffuseur
ρ_0	Masse volumique du milieu externe à la particule (eau)
ρ_q	Masse volumique au nœud d'indice q
ρ_{diff}	Masse volumique de la particule ou cylindre diffuseur
σ	Coefficient de Poisson de la particule ou cylindre diffuseur
σ_{diff}	Section efficace totale de diffusion
σ_{eff}	Section efficace effective de la suspension

σ_{rd}	Section efficace différentielle de rétro-diffusion
ψ	Potentiel scalaire
ω	Pulsation
$\zeta(t)$	Bruit blanc additif
$\zeta'(t)$	Bruit en l'absence de signal
ζ_0	Densité spectrale de puissance d'un bruit blanc
Δ	Longueur du filtre temporel (ou fenêtre temporelle)
$\Delta h, \Delta t$	Pas spatial et temporel des simulations
Δf	Bande de fréquence
ΔT	Résolution temporelle
ΔT_{diff}	Longueur du filtre temporel du signal diffusé utilisé dans les simulations.
ΔT_p	Temps de parcours
$\Phi_m ()$	Impédance à la surface de la particule
Π	Puissance
$\Pi_s = \int_S I_s dS$	Puissance totale diffusée ($dS = r^2 d\Omega$ pour les grandes distances)
Π_{inc}	Puissance incidente

Abréviations

<i>ACU</i>	Agents de Contraste Ultrasonores
<i>ECAH</i>	Modèle issu des études d'Epstein, Carhart, Allegra et Hawley
<i>PFC</i>	PerFluroCarbone
<i>PFOB</i>	PerFluroOctylBromide
<i>PLGA</i>	Poly(Lactique-co-Glycolique)
<i>PVA</i>	Poly(Vinyl Alcohol)
<i>PFH</i>	PerFluroHexane
<i>PFD</i>	PerFluroDecalin
<i>PML</i>	Couches absorbantes (Perfectly Matched Layer)

Chapitre 1 : Introduction

L'imagerie conventionnelle permet à l'heure actuelle une visualisation anatomique des organes et des tissus, mais l'imagerie du futur s'oriente désormais vers un dépistage spécifique et précoce de pathologies à l'échelle moléculaire. De nouvelles thérapies de plus en plus spécifiques et localisées sont mises en place, avec pour objectif de combiner la détection précoce et un traitement non invasif, évitant ainsi le développement d'une pathologie avant même sa manifestation clinique. Les progrès de ces nouvelles techniques d'imageries et thérapies moléculaires sont étroitement liées à la mise au point de micro ou nanoparticules permettant un marquage spécifique, afin de fournir une source de contraste et de vectorisation ciblée d'un principe actif.

Pour de nombreuses maladies les techniques ultrasonores, constituent une méthode diagnostique simple, peu coûteuse et non-ionisante. Cependant, certains tissus, que l'on souhaiterait discriminer, présentent des différences d'échogénicité indiscernables. Les Agents de Contraste Ultrasonore (*ACU*) injectables par voie intraveineuse permettent en partie de s'affranchir de ces limites. Il s'agit de microbulles de 1 à 10 μm de diamètre, composées d'une coque d'épaisseur mono-moléculaire utilisant soit l'albumine, soit des tensioactifs soit encore des lipides enfermant un gaz. Les *ACU* sont strictement localisés dans le compartiment vasculaire et après injection intra-veineuse, ils renforcent le signal.

La découverte des microbulles d'air comme produits de contraste ultrasonore est attribuée au Dr. C. Joiner (1960). Il avait noté, dans un échocardiogramme en mode *M* (mouvement) du canal aortique, un incrément du signal échographique provoqué par l'injection d'une solution saline. On a montré depuis que le rehaussement du signal résultait de la formation de microbulles libérées pendant l'agitation de la solution [1]. Lorsque les travaux de Feinstein et al.

[1] Gramiak R., and Shah P. M., "Echocardiography of the aortic root." *Invest. Radiol.*, Vol. 3, pp. 356-66, 1968.

[²] ont montré que l'albumine présente dans le sang stabilisait ces microbulles, le premier ACU commercial était apparu. D'une durée de vie inférieure à 5 minutes, mais capable de franchir les capillaires pulmonaires³.

Actuellement plus de dix types d'ACU sont disponibles ou en cours du processus d'approbation (annexe 1). Citons 2 ou 3 exemples :

- Levovist® (50 % des particules inférieure à 3 µm), est formé d'un mélange d'une poudre de galactose microcristalline (99,9 %) et de 0,1 % d'acide palmitique. Avant l'injection, lorsque la poudre est agitée en eau stérile, les cristaux de galactose se désagrègent en formant des microparticules, qui servent de centres de nucléation pour les microbulles. Les microbulles sont stabilisées grâce à l'addition du surfactant (acide palmitique), permettant de prolonger sa durée 3 à 5 minutes avec un rehaussement du signal doppler d'entre 10 et 20 dB.
- L'Echogen®, utilise le changement de phase du liquide dodecafluoropentane pour augmenter la durée de vie. Il est composé de microgouttes de dodecafluoropentane stabilisées par un surfactant, qui, après être injectées s'évaporent en formant les microbulles.
- L'Optison®, utilise un gaz peu soluble dans le plasma sanguin, l'octafluoropropane, ce qui augmente considérablement la durée de vie des microbulles (entre 5 et 10 minutes).

L'utilisation des ACU permet d'étudier la perfusion tissulaire, avec une approche plus précise que celles de la tomodensitométrie ou de la résonance magnétique, car les agents de contraste iodés ou paramagnétiques actuels diffusent dans le compartiment interstitiel. Certains types de tumeurs peuvent ainsi être identifiés grâce aux caractéristiques de leur vascularisation, ce qui augmente la spécificité du diagnostic.

1.1. Les ACU et la vectorisation de médicaments

Il est courant de classer les mécanismes de ciblage des ACU en deux types : actif ou passif [⁴].

1.1.1. Ciblage passif

Produit grâce à des liaisons non spécifiques, le ciblage passif utilise les propriétés du système défensif de l'organisme. Les ACU se lient aux cellules phagocytaires, responsables de

[2] Feinstein S.B., Shah P. M., Bing R. J. et al., "Microbubble dynamics visualised in the intact capillary circulation", *J. Am. Coll. Cardio.*, Vol. 4, pp.595-600, 1984.

3 l'Albunex®, développé par Molecular Biosystems Inc. Il s'agit de microbulles d'air d'une taille moyenne de 4 µm stabilisées par une membrane d'albumine, lit capillaire.

[4] Hughes M. S., et al., *Philips, Medical Systems, Medicamundi*, Vol. 47, n°1, pp. 66-73, 2003.

l'élimination des substances étrangères de l'organisme. La phagocytose passive par les macrophages peut avoir lieu dans des sites différents (poumon, foie, rate et nodules lymphoïdes, os et moelle osseuse, tissus nerveux), mais généralement, les *ACU* sont éliminés de la circulation sanguine par les cellules phagocytaires présentes dans le foie, la rate et la moelle osseuse [5]. Par exemple, l'*ACU* Sonavist® (taille moyenne de 1 µm), s'associe aux cellules de Kupffer⁶, leur rupture produit un signal fort permettant ainsi la visualisation de ce type de cellules. L'absence de ces signaux en certains sites, peut aussi aider à détecter un manque de cellules de Kupffer, dû par exemple à la présence d'un cancer du foie.

1.1.2. Ciblage actif

Le ciblage actif se réfère à l'attachement direct des *ACU* sur un site spécifique. Une grande variété de ligands tels que les anticorps, peptides, polysaccharides et aptamers⁷, peuvent être utilisés pour lier les *ACU* aux épitopes⁸ et récepteurs cellulaires. L'attachement de ces ligands à la surface des *ACU* dépend des propriétés de la capsule et peut être de type covalent (conjugaison directe) ou non covalent (conjugaison indirecte) [9]. Pour le ciblage des cellules du système vasculaire, les *ACU* de tailles micrométriques sont adéquates.

Au-delà du système vasculaire, il est préférable d'utiliser des particules de plus petite taille (inférieure à 1 µm) car les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins permettent le passage des telles particules vers les espaces extravasculaires⁷. Lanza et al. [10] ont développé des *ACU* constitués d'une suspension de gouttes de 250 nm de diamètre, contenant du perfluoro dichlorooctane stabilisé par une monocouche lipidique. L'incorporation de phosphatidyl ethanolamine biotynilé sur la couche lipidique permet d'attacher ces *ACU* à des membranes. Des mesures in vitro ont révélé une augmentation de la réflectivité acoustique de 36 dB pour un caillot de plasma et de 8,5 dB pour un caillot constitué de globules rouges (30 MHz ≤ fréquence d'émission ≤ 55 MHz). L'utilisation des perfluorocarbones, qui ont des points d'ébullition bas, permet en appliquant des ultrasons de haute puissance, de convertir les particules liquides en particules gazeuses [11].

Les *ACU* doivent cependant encore être optimisés, notamment en termes de stabilité in vivo. En effet, les produits actuellement disponibles ne résistent que quelques minutes dans la circulation générale avant d'être détruit par les ultrasons. C'est pour cette raison que depuis peu la recherche se concentre sur l'utilisation des polymères biocompatibles et biodégradables comme

[5] Unger E., et al., *Philips, Medical Sytems, Medicamundi, Vol. 47, n°1, pp. 58-65, 2003.*

⁶ Cellules spécialisées dans le foie qui détruisent des bactéries et des protéines étrangères et des cellules de sang épuisées

⁷ Ligands des acides nucléiques

⁸ Séquences de protéines portées par des allergènes

[9] Hughes M. S., et al., *Philips, Medical Sytems, Medicamundi, Vol. 47, n°1, pp. 66-73, 2003.*

[10] Gregory M. Lanza et al, *J. Acoust. Soc. Am., Vol. 104, n°6, 1998.*

[11] Hughes M. S., et al., *J. Acoust. Soc. Am., Vol. 117, n°2, pp.964-972, 2005.*

matériau d'encapsulation¹². L'acide poly(lactide-co-glycolide) ou *PLGA* (dont l'utilisation clinique est approuvée par la *FDA*¹³) a été testé par plusieurs chercheurs, et est utilisé comme matériel d'encapsulation dans un *ACU* produit par Acusphere qui est actuellement en phase d'essais cliniques¹⁴.

Plusieurs étapes générales ont été franchies dans la conception des *ACU* :

- les microbulles de gaz libre ne traversent pas le lit cardio-pulmonaire,
- les microbulles d'air encapsulées par les phospholipides traversent le lit pulmonaire,
- les microbulles de gaz de basse solubilité, encapsulées par des phospholipides ont amélioré la stabilité,
- les microbulles de gaz, encapsulées par polymères ont des propriétés acoustiques et stabilité contrôlables.

Les *ACU* à base de gaz perfluorocarbone disponibles actuellement sont pour l'instant peu stables. Dans ce travail, nous avons étudié le comportement de microparticules originales, fabriquées en collaboration avec le laboratoire *Physico-chimie-Pharmacotechnie-Biopharmacie, Université Paris XI, UMR CNRS 8612*.

Ces microsphères polymériques sont :

- stables *in vivo* (supérieure 24 heures),
- biocompatibles et biodégradables,
- échogènes (ils augmentent le signal échographique de plus de 13 dB),
- modulables : nous pouvons faire varier le rayon des particules, l'épaisseur ainsi que les propriétés mécaniques de la coque.

Nous avons étudié leur réponse acoustique en faisant varier le rapport épaisseur / rayon de la coque des particules, et leur taille.

L'échogénicité de ces *ACU* a été corrélée à des paramètres physiques (compressibilité des microsphères, l'épaisseur et la rigidité de leur coque) déterminés expérimentalement.

Finalement, nous avons modélisé la réponse acoustique des *ACU* à l'aide d'un programme original développé au Laboratoire d'Imagerie Paramétrique (*LIP*) *Université Paris VI, UMR CNRS 7323*.

¹² Les produits formés par une solution colloïdale de perfluorocarbone liquide ou de microbulles recouvertes de capsules hautement résistantes, restent intacts jusqu'à leur absorption par le système réticulo-endothélial où ils sont finalement éliminés. Ils peuvent donc, par exemple, produire un rehaussement du signal provenant du parenchyme hépatique, permettant ainsi d'observer la distribution des cellules Kupffer et de délimiter un cancer éventuel.

¹³ Food and Drug Administration, USA

¹⁴ Imagify® (AI-700),

1.2. Plan du mémoire

Ce mémoire comporte, outre l'introduction, quatre chapitres et se termine par une dernière partie consacrée aux conclusions et perspectives de ce travail.

Le deuxième chapitre décrit l'approche théorique de la réponse acoustique de particules sphériques homogènes pour des particules liquides et des particules élastiques. A ce modèle décrivant des particules homogènes, nous apportons des modifications pour y inclure la présence d'une capsule et les pertes dissipatives associées. Une modélisation du paramètre de rehaussement du signal rétrodiffusé est également proposée en considérant le bruit électronique inhérent du système comme un bruit blanc additif. L'utilisation d'une technique de substitution permettra alors de faire une comparaison directe entre les modèles théoriques de diffusion simple (Faran, Hasegawa, etc) et les mesures de rehaussement de contraste acoustique.

Le troisième chapitre est consacré d'une part à la description des micro et nanoparticules de PLGA à cœur liquide, et d'autre part aux méthodes expérimentales *in vitro* mises en œuvre pour ce travail et aux méthodes de simulations numériques *in silico* de l'évaluation de la réponse acoustique des ACU. Les méthodes de traitement des signaux expérimentaux seront optimisées et les caractéristiques du bruit seront étudiées pour pouvoir ainsi appliquer le modèle proposé au chapitre 2.

Les résultats *in vitro* sont présentés dans le chapitre quatre qui comprend deux parties. La première partie concerne les résultats sur les particules homogènes avec une comparaison avec le modèle de Faran. La seconde partie analyse les résultats obtenus sur des solutions d'ACU à cœur liquide. Nous étudierons l'effet de la concentration des particules, l'effet de leur taille et de l'épaisseur de la coque de PLGA afin de permettre d'optimiser les processus de fabrication.

Le cinquième chapitre porte sur les résultats des simulations numériques ainsi que leur comparaison avec les résultats expérimentaux obtenus. Une première partie sera consacrée à l'étude de la réponse acoustique de particules d'ACU isolées dans le cas bidimensionnel, où notre approche sera validée par la comparaison avec la théorie de Faran. Une deuxième partie sera dédiée à l'étude de la propagation des ultrasons dans une distribution aléatoire de particules d'ACU. La puissance rétrodiffusée par l'ensemble des particules, l'atténuation et la vitesse effectives de propagation y seront analysées.

En conclusion, nous présentons une étude expérimentale et numérique de la réponse acoustique d'un nouveau type d'agent de contraste ultrasonore afin de pouvoir en optimiser leur production et leur efficacité. L'objectif principal de cette étude sera alors de trouver la relation entre la réponse acoustique d'ACU et leurs propriétés structurales.

Chapitre 2 : Réponse acoustique de diffuseurs homogènes

Nous présenterons dans ce chapitre l'approche théorique de la réponse acoustique de particules sphériques et cylindriques homogènes. En particulier, deux cas extrêmes seront étudiés : des particules liquides et des particules élastiques. Nous discuterons également des modifications apportées aux théories décrivant des particules homogènes pour y inclure la présence d'une capsule et les pertes dissipatives associées. Finalement, une modélisation du paramètre de rehaussement du signal rétrodiffusé, *SNR* (Signal to Noise Ratio ou rapport signal à bruit en français), est proposée en considérant le bruit électronique inhérent du système comme un bruit blanc additif.

2.1. Diffusion d'une sphère non-rigide (élastique, liquide ou gazeuse) homogène.

Si une sonde circulaire de rayon a émet un faisceau de puissance acoustique homogène et l'élément diffuseur est une sphère homogène de rayon R , petit devant la longueur d'onde λ_0 du faisceau incident, et située à une distance l_0 très éloignée de la sonde (i.e. $a \ll l_0$), alors la puissance rétrodiffusée reçue P_{rd} par la sonde s'écrit [1]:

$$P_{rd} = I_0 \sigma_{diff} \frac{a^2}{4l_0^2} \quad (2.1)$$

où I_0 est l'intensité de l'onde incidente,

l_0 est la distance entre le diffuseur et l'émetteur et

σ_{diff} la section efficace totale de diffusion, elle représente la portion de la puissance de l'onde incidente réémise par l'obstacle.

Pour une particule sphérique de petite taille ($2\pi R/\lambda_0 \ll 1$), Morse et Ingard [2] (éq. 8.2.19) ont évalués σ_{diff} :

$$\sigma_{diff} = \left[\frac{64}{9} \pi^5 \frac{R^6}{\lambda_0^4} \right] \left[\left| \frac{\kappa_{diff} - \kappa_0}{\kappa_0} \right|^2 + \frac{1}{3} \left| \frac{3(\rho_{diff} - \rho_0)}{2\rho_{diff} + \rho_0} \right|^2 \right] \quad (2.2)$$

où R est le rayon du diffuseur,

λ_0 la longueur d'onde du signal émis,

ρ_0 et κ_0 sont, respectivement, la masse volumique et la compressibilité du milieu environnant la sphère diffusante,

ρ_{diff} et κ_{diff} sont, respectivement, la masse volumique et la compressibilité de la sphère diffusante.

Pour une sphère d'air plongée dans l'eau : $\rho_{diff} = 1,2910^{-3} \text{ g.ml}^{-1}$, $\kappa_{diff} = 7,0410^{-6} \text{ Pa}^{-1}$, $\rho_0 = 1 \text{ g.ml}^{-1}$ et $\kappa_0 = 4,610^{-10} \text{ Pa}^{-1}$, puisque $\kappa_0 \gg \kappa_{diff}$ et $\rho_{diff} \ll \rho_0$, il est possible de faire la simplification suivante :

$$\left[\left| \frac{\kappa_{diff} - \kappa_0}{\kappa_0} \right|^2 + \frac{1}{3} \left| \frac{3(\rho_{diff} - \rho_0)}{2\rho_{diff} + \rho_0} \right|^2 \right] \approx \left[\left| \frac{\kappa_{diff}}{\kappa_0} \right|^2 + \frac{1}{3} \left| \frac{3(-\rho_0)}{\rho_0} \right|^2 \right] \approx \left| \frac{\kappa_{diff}}{\kappa_0} \right|^2 \approx 2 \times 10^8 \quad (2.3)$$

Un calcul similaire (sans la simplification) effectué pour n'importe quel type de particules solides sphériques montre que les bulles de gaz sont les éléments diffuseurs les plus efficaces (sans inclure l'effet de pulsation). Par exemple, pour une particule du liquide PFOB (perfluooctylbromide) $\rho_{diff} = 1,93 \text{ g.ml}^{-1}$ et $\kappa_{diff} = 1,29 \times 10^{-9} \text{ Pa}^{-1}$, ce qui donne :

$$\left[\left| \frac{\kappa_{diff} - \kappa_0}{\kappa_0} \right|^2 + \frac{1}{3} \left| \frac{3(\rho_{diff} - \rho_0)}{2\rho_{diff} + \rho_0} \right|^2 \right] \approx 3,4 \quad (2.4)$$

Pour une suspension de faible concentration, n , de particules identiques, on peut considérer que la diffusion de l'onde incidente se produit de manière indépendante pour chacune des

[1] Ophir J., and Parker K. J., "Contrast agents in diagnostic ultrasound", *Ultrasound in Medicine and Biology*, Vol. 15, n°4, pp. 319-333, (1989).

[2] Morse P. M., and Ingard K. U., "Theoretical acoustics", Chapter 8: "The scattering of sound", Princeton University Press. Princeton, New Jersey.

particules et donc que la section efficace effective de la suspension σ_{eff} est proportionnelle à la concentration des particules présentes $\sigma_{eff} = n\sigma_{diff}$. Ainsi, il est possible d'accroître l'intensité du signal diffusé simplement en augmentant la concentration des particules en suspension. Néanmoins, cet effet est relativement modeste en comparaison de l'accroissement de l'intensité obtenue par une augmentation de la taille des particules et/ou de la fréquence de l'onde incidente (terme R^6/λ_0^4 de l'équation 2.2) [3].

2.2. Diffusion par un cylindre ou une sphère homogène. Modèle de Faran

Faran [4] a étudié la diffusion d'une onde acoustique plane de vecteur d'onde $k_0 = \frac{2\pi}{\lambda_0}$, par un obstacle isolé, élastique, isotrope, de géométrie cylindrique ou sphérique (de rayon R et de masse volumique ρ_{diff}). L'obstacle est immergé dans un fluide non-visqueux, incompressible et de masse volumique ρ_0 .

Le problème présente trois situations distinctes. D'abord on envoie une onde acoustique incidente qui se propage dans le milieu dans la direction \hat{z} dans le cas sphérique⁵ jusqu'au moment où l'onde rencontre l'obstacle, lequel est placé à l'origine des coordonnées (figure 2.1). Ensuite l'onde se propage dans l'obstacle pour enfin en ressortir et se propager dans le milieu environnant. Nous allons montrer comment résoudre le système d'équations décrivant la propagation ultrasonore dans les trois situations précédentes.

[3] Couture O., et al., "Investigating perflurohexane particle with high-frequency ultrasound", *Ultrasound in Medicine and Biology*, Vol. 32, n°1, pp. 73-82, 2006.

[4] Faran J. J., "Sound scattering by solid cylinders and spheres", *J. Acoust. Soc. Am.*, Vol. 23, pp. 405-418, 1951.

⁵ dans la direction \hat{x} dans le cas cylindrique.

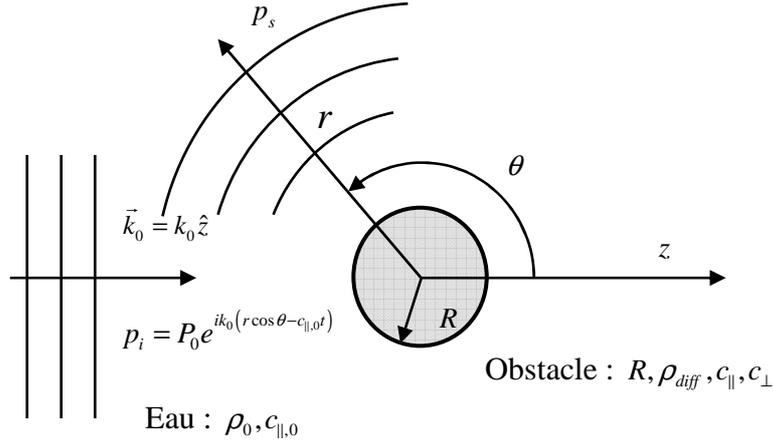


Figure 2.1 : Diffusion acoustique par un obstacle isolé de géométrie cylindrique. La géométrie posée par le problème permet d'éliminer la dépendance de l'angle azimutal ϕ ⁶. $c_{||,0} = c_0$ vitesse des ondes de compression dans le milieu externe à la particule (eau) ($m.s^{-1}$), $c_{||}$: vitesse des ondes de compression (ou longitudinal) dans la particule ou le cylindre diffuseur ($m.s^{-1}$), c_{\perp} : vitesse des ondes de cisaillement (ou transversal) dans la particule ou le cylindre diffuseur ($m.s^{-1}$)

2.2.1 Propagation de l'onde incidente avant la rencontre de l'obstacle

L'onde incidente se propageant dans un liquide non-visqueux obéit à l'équation d'onde :

$$\nabla^2 p_i = \frac{1}{c_{||,0}^2} \frac{\partial^2 p_i}{\partial t^2} \quad (2.5)$$

où $c_{||,0}$ est la vitesse ultrasonore dans le liquide, et t le temps.

La pression acoustique p_i de l'onde incidente plane s'écrit en coordonnées cylindriques (r , θ et z) (la dépendance temporelle $e^{-i\omega t}$ sera omise dans tous les calculs). L'onde plane peut être représentée par :

$$p_i = P_0 e^{ik_0 r \cos \theta} = P_0 \sum_{m=0}^{\infty} \varepsilon_m i^m J_m(k_0 r) \cos(m\theta) \quad (2.6)$$

P_0 est l'amplitude de l'onde de pression incidente,

ε_m le facteur de Neumann,

$J_m(k_0 r)$ les fonctions de Bessel du première ordre.

Après calculs, en coordonnées sphériques (r , θ , ϕ) :

⁶ Dans le cas cylindrique la direction de l'onde incidente est \hat{x} avec le cylindre placé parallèlement à l'axe z ce qui permet d'éliminer la dépendance de z .

$$p_i = P_0 e^{ik_0 r \cos \theta} = P_0 \sum_{m=0}^{\infty} (2m+1) i^m j_m(k_0 r) P_m(\cos \theta) \quad (2.7)$$

avec $j_m(k_0 r)$ représentant les fonctions sphériques de Bessel du 1^{ère} ordre et $P_m(\cos(\theta))$ les polynômes de Legendre.

Le développement en fonctions de Bessel de première espèce, permet d'assurer la convergence lorsque $r \rightarrow 0$.

La composante radiale du déplacement $u_{i,r}$ de l'onde incidente est déduite en utilisant :

$$u_{i,r} = \frac{1}{\rho_0 \omega^2} \frac{\partial p_i}{\partial r} \quad (2.8)$$

où ω est la pulsation angulaire de l'onde ultrasonore et $k_0 = \frac{\omega}{c_0}$.

2.2.2 Propagation de l'onde dans l'obstacle

Dans l'obstacle, les ondes obéissent à l'équation de propagation dans un milieu élastique [7] :

$$\left(\lambda_{diff} + 2\mu_{diff} \right) \nabla \left(\nabla \cdot \vec{\mathbf{u}} \right) - \mu_{diff} \nabla \times \nabla \times \vec{\mathbf{u}} = \rho_{diff} \frac{\partial^2 \vec{\mathbf{u}}}{\partial t^2} \quad (2.9)$$

où $\vec{\mathbf{u}}$ est le vecteur de déplacement,

λ_{diff} et μ_{diff} sont les coefficients de Lamé de l'obstacle diffuseur⁸

et ρ_{diff} sa masse volumique.

En prenant la divergence et le rotationnel de cette équation, on obtient deux équations indépendantes :

$$\nabla^2 (\nabla \cdot \vec{\mathbf{u}}) = \frac{\rho_{diff}}{\lambda_{diff} + 2\mu_{diff}} \frac{\partial^2 (\nabla \cdot \vec{\mathbf{u}})}{\partial t^2} \quad (2.10)$$

$$\nabla^2 (\nabla \times \vec{\mathbf{u}}) = \frac{\rho_{diff}}{\mu_{diff}} \frac{\partial^2 (\nabla \times \vec{\mathbf{u}})}{\partial t^2} \quad (2.11)$$

qui sont associés aux vitesses de propagation longitudinale c_{\parallel} , et transversale c_{\perp} :

$$c_{\parallel} = \sqrt{\frac{\lambda_{diff} + 2\mu_{diff}}{\rho_{diff}}} = \sqrt{\frac{E(1-\sigma)}{\rho_{diff}(1+\sigma)(1-2\sigma)}} \quad (2.12)$$

[7] Love A. E. H., "A treatise on the mathematical theory of elasticity", Dover Publications.

⁸ Le solide est considéré ici comme élastique linéaire et isotrope.

$$c_{\perp} = \sqrt{\frac{\mu_{diff}}{\rho_{diff}}} = \sqrt{\frac{E}{2\rho_{diff}(1+\sigma)}} = c_{\parallel} \sqrt{\frac{1-2\sigma}{2(1-\sigma)}} \quad (2.13)$$

où E est le module de Young
et σ le coefficient de Poisson.

Dans ce travail, les vitesses c_{\parallel} et c_{\perp} seront aussi exprimées en fonction de la rigidité $B = \rho_{diff} c_{\parallel}^2$ ou de sa valeur inverse la compressibilité $\kappa = B^{-1}$.

Si \vec{u} peut s'écrire en fonction d'un potentiel scalaire ψ et d'un potentiel vecteur \vec{A} : $\vec{u} = -\nabla\psi + \nabla \times \vec{A}$, alors \vec{u} est une solution de (2.9) à la condition que ψ soit une onde de compression (i.e. vérifie $\nabla^2\psi = \frac{1}{c_{\parallel}^2} \frac{\partial^2\psi}{\partial t^2}$) et \vec{A} une onde de cisaillement (i.e. vérifie $\nabla^2\vec{A} = \frac{1}{c_{\perp}^2} \frac{\partial^2\vec{A}}{\partial t^2}$). En effet, on montre que $-\nabla\psi$ et $\nabla \times \vec{A}$ vérifient les équations (2.10) et (2.11).

Les solutions dans le cas d'un obstacle cylindrique peuvent être réduites en fonction du potentiel scalaire ψ et de la composante A_z du potentiel vecteur \vec{A} :

$$\begin{aligned} \psi &= \sum_{m=0}^{\infty} A_m J_m(k_{\parallel} r) \cos(m\theta) \\ A_z &= \sum_{m=0}^{\infty} B_m J_m(k_{\perp} r) \sin(m\theta) \end{aligned} \quad (2.14)$$

où $k_{\parallel} = \frac{2\pi f}{c_{\parallel}}$ est le vecteur d'onde de compression dans la particule ou le cylindre diffuseur (m^{-1})

$k_{\perp} = \frac{2\pi f}{c_{\perp}}$ est le vecteur d'onde de cisaillement dans la particule ou le cylindre diffuseur (m^{-1})

A_m et B_m sont les inconnues.

Les solutions dans le cas d'un obstacle sphérique sont exprimées en fonction du potentiel scalaire ψ et de la composante A_{ϕ} du potentiel vecteur \vec{A} :

$$\begin{aligned} \psi &= \sum_{m=0}^{\infty} A_m j_m(k_{\parallel} r) P_m(\cos\theta) \\ A_{\phi} &= \sum_{m=0}^{\infty} B_m j_m(k_{\perp} r) \frac{d}{d\theta} P_m(\cos\theta) \end{aligned} \quad (2.15)$$

où les coefficients A_m et B_m sont des inconnues.

En effet, le potentiel vectoriel \vec{A} ne peut pas avoir de composantes A_r et A_θ puisque les conditions de symétrie ne permettent pas le déplacement u_z dans le cas cylindrique et u_ϕ dans le cas sphérique.

Les composantes radiale u_r et angulaire u_θ du déplacement associées à l'onde sont calculées en utilisant $\vec{u} = -\nabla\psi + \nabla \times \vec{A}$.

2.2.3 Propagation de l'onde après sa sortie de l'obstacle

L'onde diffusée par l'obstacle doit être symétrique à $\theta = 0$. On obtient ainsi pour le cas cylindrique [2] :

$$\begin{aligned} p_s &= \sum_{m=0}^{\infty} C_m [J_m(k_0 r) + iN_m(k_0 r)] \cos(m\theta) \\ &= \sum_{m=0}^{\infty} C_m H_m^{(1)}(k_0 r) \cos(m\theta) \end{aligned} \quad (2.16)$$

où le coefficient C_m est inconnu,

$H_m^{(1)}(kr_0) = J_m(kr_0) + iN_m(kr_0)$: fonction de Hankel de première espèce d'ordre m.

Et pour le cas sphérique :

$$\begin{aligned} p_s &= \sum_{m=0}^{\infty} C_m [j_m(k_0 r) + in_m(k_0 r)] P_m(\cos \theta) \\ &= \sum_{m=0}^{\infty} C_m h_m(k_0 r) P_m(\cos \theta) \end{aligned} \quad (2.17)$$

Le développement en fonctions de Hankel de première espèce $H_m^{(1)}(x)$ et de Hankel sphérique $h_m(x)$ permet d'assurer une convergence du type onde sphérique à la sortie de la particule lorsque $r \rightarrow \infty$.

La composante radiale du déplacement de l'onde diffusé vaut $u_{s,r} = \frac{1}{\rho_o \omega^2} \frac{\partial p_s}{\partial r}$

2.2.4 Conditions aux bords. Solution du système

Le système entier se résout en posant les conditions aux limites suivantes à l'interface obstacle - liquide (i.e. pour $r = R$) :

- La pression dans le liquide externe doit être égale à la composante radiale de la contrainte dans le solide.
- La composante normale du déplacement dans le liquide doit être égale à la composante normale du déplacement dans le solide.
- La composante tangentielle de la contrainte doit être nulle.

Ces trois conditions s'écrivent, pour $r = R$, dans le cas cylindrique :

$$\begin{aligned}
p_i + p_s &= -\lambda_{diff} \nabla \cdot \vec{u} + 2\mu_{diff} \frac{\partial u_r}{\partial r} \\
u_{i,r} + u_{s,r} &= u_r \\
\mu_{diff} \left[\frac{1}{r} \frac{\partial u_r}{\partial \theta} + r \frac{\partial (u_\theta/r)}{\partial r} \right] &= \mu_{diff} \left[\frac{\partial u_r}{\partial z} + \frac{\partial u_z}{\partial r} \right] = 0
\end{aligned} \tag{2.18}$$

Et pour le cas sphérique :

$$\begin{aligned}
p_i + p_s &= -\lambda_{diff} \nabla \cdot \vec{u} + 2\mu_{diff} \frac{\partial u_r}{\partial r} \\
u_{i,r} + u_{s,r} &= u_r \\
\mu_{diff} \left[\frac{\partial u_\theta}{\partial r} - \frac{u_\theta}{r} + \frac{1}{r} \frac{\partial u_r}{\partial \theta} \right] &= \mu_{diff} \left[\frac{1}{r \sin \theta} \frac{\partial u_r}{\partial \theta} + \frac{\partial u_\phi}{\partial r} - \frac{u_\phi}{r} \right] = 0
\end{aligned} \tag{2.19}$$

Nous ne détaillerons pas le développement de la résolution de ce problème (qui se trouve dans l'article de Faran [4]) mais nous avons résumé sous la forme d'algorithme la résolution du problème pour les cas cylindrique et sphérique dans les figures 2.2 et 2.3.

Au final nous obtenons que l'onde de pression p_s diffusée sous un angle θ à une distance r de l'obstacle s'écrive dans le cas cylindrique :

$$p_s = \sum_{m=0}^{\infty} C_m H_m^{(1)}(k_0 r) \cos(m\theta) \tag{2.20}$$

et dans le cas sphérique :

$$p_s = \sum_{m=0}^{\infty} C_m h_m^{(1)}(k_0 r) P_m(\cos \theta) \tag{2.21}$$

où les coefficients C_m sont obtenus à partir des conditions aux limites (voir les algorithmes pour leur détermination).

Les figures ci-après sont des représentations graphiques des algorithmes⁹ qui ont permis la détermination des coefficients. Le nombre d'itération a été optimisé ($m = 20$). Pour ne pas encombrer la figure nous n'avons pas représenté l'initialisation des différents paramètres.

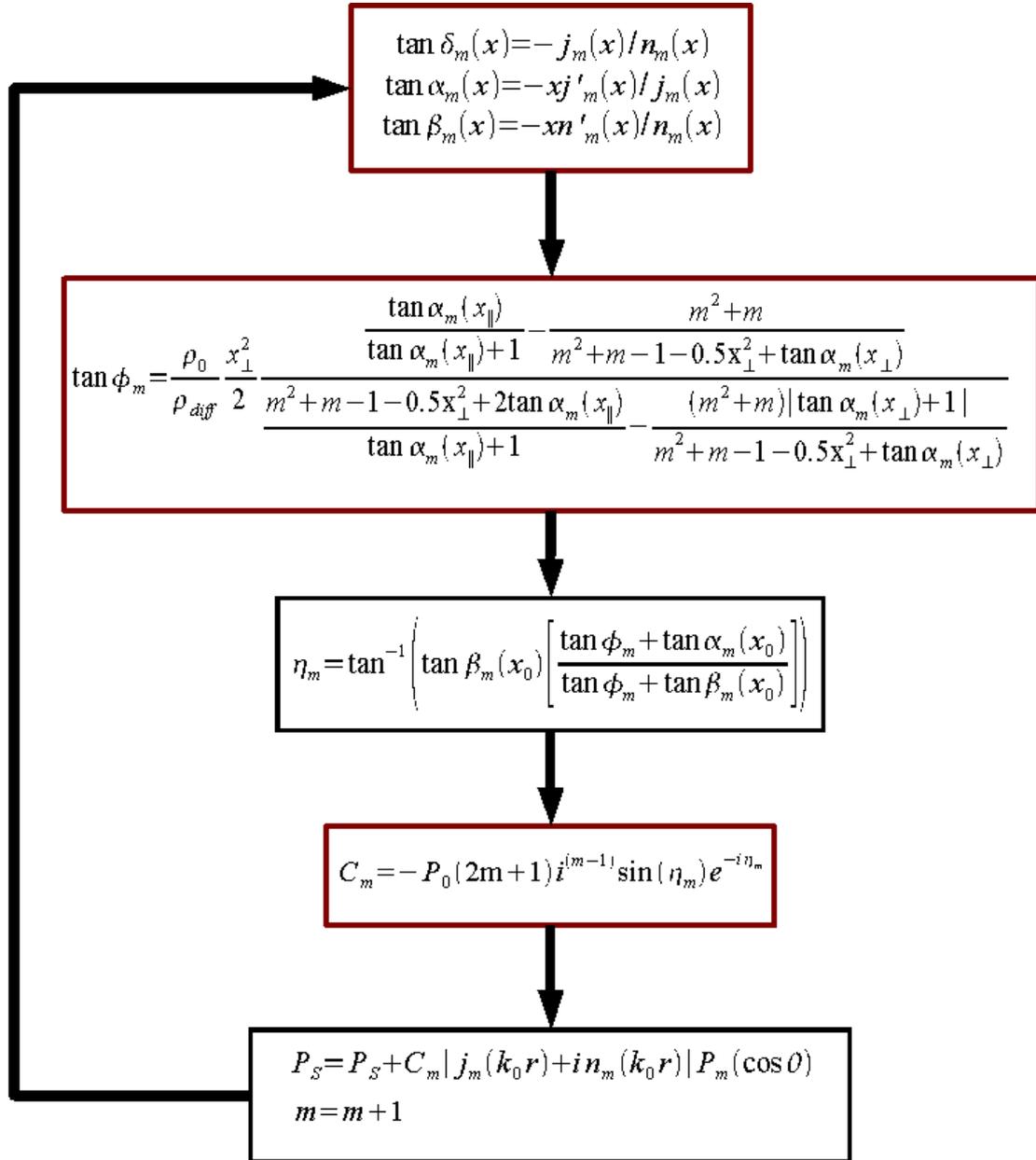


Figure 2.2 : Représentation schématique du modèle de Faran pour le cas sphérique.

⁹ Pour une question de simplicité, ces calculs ont été effectués à l'aide du logiciel Matlab®.

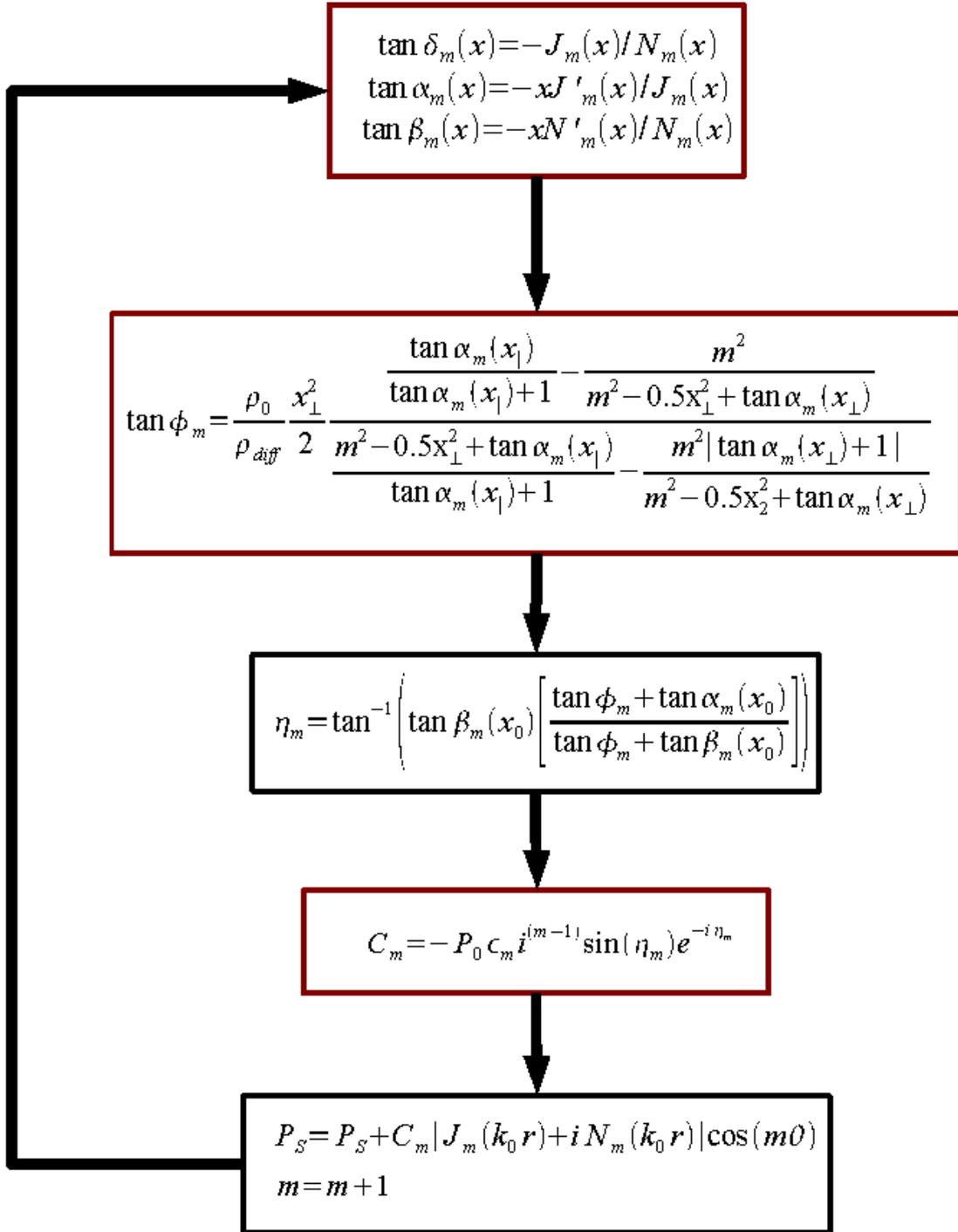


Figure 2.3: Représentation schématique du modèle de Faran pour le cas cylindrique¹⁰.

¹⁰ Ce calcul sera utilisé dans le processus de validation du calcul numérique, via le programme SimSonic, que l'on verra dans les chapitres suivants.

2.2.5 Comparaison avec l'expérience

Finalement, la confrontation du modèle avec nos mesures expérimentales se fera grâce au rapport de la puissance diffusée $d\Pi_S$ sur la puissance incidente $d\Pi_{inc}$ sur une même surface dS :

$$d\Pi = IdS = \frac{|p|^2}{2\rho_0 c_{\parallel,0}} dS \quad (2.22)$$

$d\Pi$ est l'élément de puissance,

I est l'intensité de l'onde,

et p est la pression.

Dans notre cas, cela se ramène à :

$$\frac{d\Pi_s}{d\Pi_{inc}} = \frac{|p_s|^2}{P_0^2} \quad (2.23)$$

2.2.6 Cas particuliers

2.2.6.a. Cas limites : particule rigide immobile, particule rigide mobile et particule fluide

Il est intéressant d'analyser le comportement du terme ϕ_m de la fonction de déphasage η_m (voir les figures 2.2 et 2.3) en fonction des propriétés élastiques et physiques de l'obstacle.

Si l'obstacle est infiniment rigide ($E \rightarrow \infty$) et immobile ($\rho_{diff}/\rho_0 \rightarrow \infty$), alors $\tan \phi_m \rightarrow 0$ pour toutes les valeurs de m , la solution du modèle de Faran est alors équivalente à la solution donnée par Morse et Ingard (équation 8.2.2 : *Theoretical acoustics*).

Si, par contre, on considère un obstacle infiniment rigide, mais de masse volumique finie on obtient :

$$\tan \phi_m \rightarrow \begin{cases} \frac{\rho_0}{\rho_{diff}} & \text{si } m = 1 \\ 0 & \text{si } m \neq 1 \end{cases} \quad (2.24)$$

ce qui correspond à un mouvement oscillatoire de la particule le long de la ligne du champ d'incident en phase avec l'onde incidente et sans changement de sa forme sphérique.

Le comportement d'un obstacle fluide est obtenu en considérant que son coefficient de Lamé : μ_{diff} , devient nul quand $x_{\perp} \rightarrow \infty$. Dans ce cas, l'équation s'écrit :

$$\tan \phi_m \rightarrow \left(-\frac{\rho_0}{\rho_{diff}} \right) \tan \alpha_m (x_{\parallel}) \quad (2.25)$$

2.2.6.b. Approximation pour des obstacles de petite taille : Régime de Rayleigh

La pression diffusée par l'obstacle à une distance grande devant la longueur d'onde ($k_0 r \gg 1$), peut être trouvée en utilisant l'approximation suivante pour la fonction de Hankel sphérique [2] :

$$h_m(k_0 r) = j_m(k_0 r) + i n_m(k_0 r) \rightarrow \frac{e^{i\left(k_0 r - \frac{m+1}{2}\pi\right)}}{k_0 r} \quad (2.26)$$

L'équation 2.21 peut être écrite en utilisant l'expression (cas sphérique) :

$$\frac{|p_s|^2}{P_0^2} \approx \frac{1}{(k_0 r)^2} \left| \sum_{m=1}^{\infty} (2m+1) \sin \eta_m e^{-i\eta_m} P_m(\cos \theta) \right|^2 \quad (2.27)$$

Et si l'obstacle est de petite taille ($k_0 R \ll 1$), l'équation pour le cas d'un obstacle rigide et immobile devient

$$\frac{|p_s|^2}{P_0^2} \approx \frac{(k_0 R)^6}{9(k_0 r)^2} (1 - 3 \cos \theta)^2 \quad (2.28)$$

Il est possible d'obtenir une équation similaire pour une particule élastique de densité finie, cependant la déduction est plus complexe. Une approche utilisant la fonction de Green est donnée par Morse et Ingard (équation 8.2.15 : *Theoretical acoustics*). La distribution angulaire de puissance diffusée est donnée en fonction des différences de compressibilité et de masse volumique entre la particule et le milieu liquide extérieur :

$$\frac{|p_s|^2}{P_0^2} \approx \frac{(k_0 R)^6}{9(k_0 r)^2} \left(\frac{\kappa_{diff} - \kappa_0}{\kappa_0} + 3 \frac{\rho_{diff} - \rho_0}{2\rho_{diff} + \rho_0} \cos \theta \right)^2 \quad (2.29)$$

Cette expression est parfois connue comme l'approximation de Rayleigh, dû à la forte dépendance envers de la taille de la particule (R^6).

Dans le cas d'une particule rigide et immobile ($\kappa_{diff}/\kappa_0 \ll 1$ et $\rho_{diff}/\rho_0 \gg 1$) l'équation (2.29) devient :

$$\frac{|p_s|^2}{P_0^2} \approx \frac{(k_0 R)^6}{9(k_0 r)^2} \left(1 - \frac{3}{2} \cos \theta \right)^2 \quad (2.30)$$

La différence avec l'équation 2.28 est probablement due à la différence entre les deux méthodes : celle de Faran consiste à utiliser des équations différentielles avec des conditions aux limites, celle de Morse et Ingard utilise la fonction de Green couplée avec les approximations $k_0 R \ll 1$, $\kappa_{diff} / \kappa_0 \ll 1$ et $\rho_{diff} / \rho_0 \gg 1$.

Similairement, pour une particule légère et compressible (bulle de gaz) ($\kappa_{diff} / \kappa_0 > 1$ et $\rho_{diff} / \rho_0 \ll 1$) on obtient :

$$\frac{|p_s|^2}{P_0^2} \approx \frac{(k_0 R)^6}{9(k_0 r)^2} \left(\frac{\kappa_{diff}}{\kappa_0} - 3 \cos \theta \right)^2 \quad (2.31)$$

2.3. Distribution de particules : approximation pour de faibles concentrations

Les résultats du paragraphe précédent obtenus pour une particule isolée peuvent être utilisés si la concentration de particules est suffisamment faible pour négliger les phénomènes de diffusion multiple et si le volume de particules responsable de la diffusion (volume effectif) est placé à une grande distance de la sonde (afin de respecter les hypothèses du modèle précédent). Dans ce cas, la puissance diffusée par N particules s'écrit comme une superposition d'ondes diffusées par chacune des particules. Cette approche utilise la section efficace différentielle de diffusion qui est défini par la fraction de l'intensité incidente diffusée par la particule à un angle spécifique.

2.3.1 Section efficace différentielle de rétrodiffusion

La puissance de l'onde diffusée loin de la particule diffusante est donnée par une équation du type 2.27 (cas sphérique) :

$$\begin{aligned} |p_s|^2 &\approx \frac{P_0^2}{r^2} \left| \sum_{m=1}^{\infty} \frac{C_m^*}{k_0 P_0} i^{-m} P_m(\cos \theta) \right|^2 \\ &= \frac{P_0^2}{r^2} |f(k_0, R, \theta)|^2 \end{aligned} \quad (2.32)$$

où le coefficient C_m^* est déterminé par des conditions aux limites.

Pour des particules homogènes : $C_m^* = C_m$.

La section efficace différentielle de rétrodiffusion σ_{rd} est définie comme la puissance rétrodiffusée ($\theta = \pi$) par une surface $dS = r^2 d\Omega$ (avec $k_0 r \gg 1$) par unité d'angle solide divisée par l'intensité de l'onde incidente :

$$\sigma_{rd}(f, R) = \frac{1}{I_0} \frac{d\Pi_{rd}}{d\Omega} \quad (2.33)$$

avec :

$$d\Pi_{rd} = \frac{|p_s(f)|_{\theta=\pi}|^2 r^2 d\Omega}{2\rho_0 c_0} \quad (2.34)$$

et

$$I_0 = \frac{|p_i|^2}{2\rho_0 c_0} \quad (2.35)$$

En utilisant 2.33 on peut écrire :

$$\sigma_{rd}(f, R) = \frac{|p_s(f)|_{\theta=\pi}|^2 r^2}{P_0^2} = |f(k_0, R, \theta = \pi)|^2 \quad (2.36)$$

2.3.2 Coefficient de rétrodiffusion

On considère alors une distribution de particules dans le volume effectif V_{eff} , le coefficient de rétrodiffusion s'écrit :

$$\eta_{rd}(f) = \sum_{R'} n(R') \sigma_{rd}(f, R') \quad (2.37)$$

où $n(R') = N(R')/V_{eff}$ est la concentration en nombre de particules par unité de volume

et $N(R')$ est le nombre de particules de rayon R' dans le volume V_{eff} .

La concentration totale n et le rayon moyen R , sont donnés par :

$$\begin{aligned} n &= \sum_{R'} n(R') \\ R &= \frac{1}{n} \sum_{R'} R' n(R') \end{aligned} \quad (2.38)$$

Pour des particules identiques (distribution mono disperse) le coefficient de rétrodiffusion devient :

$$\eta_{rd}(f) = n\sigma_{rd}(f, R) \quad (2.39)$$

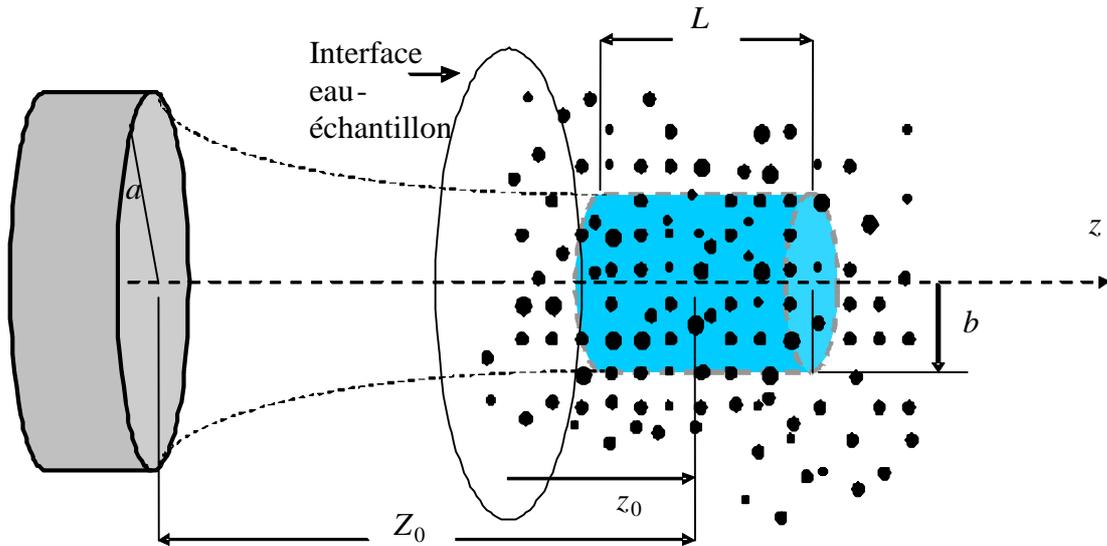


Figure 2.4 : Schéma décrivant les variables nécessaires à la définition du coefficient de rétrodiffusion.

La puissance rétrodiffusée est produite par une distribution de particules sphériques dans un volume V_{eff} situé à une distance $Z_0 \gg a$ de la sonde, (souvent Z_0 est approximativement égal à la distance focale Z_F). Le volume effectif contenant les éléments diffuseurs est défini axialement par L et latéralement par b . L (environ 1 mm) est défini par la durée de la fenêtre utilisé pour extraire les signaux rétrodiffusés)¹¹.

2.4. L'atténuation : effet de l'augmentation de la concentration

Lorsque la concentration de particules augmente, la puissance totale rétrodiffusée n'est plus proportionnelle au nombre de particules en partie à cause de l'atténuation α . Cette dernière est composée de deux termes, l'un lié aux processus d'absorption (α_a), et l'autre à la diffusion (α_d):

$$\alpha = \alpha_a + \alpha_d \quad (2.40)$$

¹¹ Les valeurs de b et L sont déterminées expérimentales autour de la focale (annexe 2 figure 8).

L'atténuation par absorption est associée aux pertes dissipatives d'énergie tant par la particule que par le milieu extérieur, alors que l'atténuation par diffusion provient des pertes d'énergie dues aux réflexions du front d'onde incidente sur les particules.

2.4.1 Atténuation par absorption

Lorsque le milieu de propagation dissipe de l'énergie (il n'est donc pas purement élastique) on dit qu'il est absorbant. L'intensité de l'onde décroît proportionnellement à la distance parcourue dx :

$$dI = -I\alpha dx \quad (2.41)$$

En intégrant l'expression précédente on obtient

$$I(x) = I_0 e^{-\alpha x} \quad (2.42)$$

où $I(x=0) = I_0$ est l'intensité de l'onde incidente
et α le coefficient d'atténuation exprimé en Np.m^{-1} .

Cette relation permet d'estimer α :

$$\alpha = -\frac{1}{x} \ln \left(\frac{I}{I_0} \right) \quad (2.43)$$

La conversion en logarithme décimal permet d'obtenir α en dB.m^{-1} (unité usuelle) :

$$\alpha_{\text{dB.m}^{-1}} = -\frac{10}{x} \log \left(\frac{I}{I_0} \right) \quad (2.44)$$

Le rapport entre les 2 expressions est naturellement :

$$\alpha_{\text{dB.m}^{-1}} = -\frac{10}{x} \log \left(\frac{I}{I_0} \right) = -\frac{10}{x} \frac{\ln \left(\frac{I}{I_0} \right)}{\ln(10)} = \frac{10}{\ln(10)} \alpha = 4,342 \alpha_{\text{Np.m}^{-1}} \quad (2.45)$$

En fait α dépend de la fréquence de l'onde. En première approximation :

$$\alpha = \beta f^\gamma \quad (2.46)$$

où β et γ sont des nombres qui caractérisent le milieu traversé par l'onde.

Dans les matériaux réels, les causes d'atténuation sont essentiellement liées à la viscosité, à la conductivité thermique et aux modifications physico-chimiques de la structure du milieu de propagation.

2.4.1.a. Viscosité

Les forces de viscosité s'exerçant entre molécules voisines sont une cause importante de l'absorption de l'onde sonore dans les solides et liquides. On montre que $\gamma = 2$ pour la plupart des liquides.

Dans l'eau $\alpha_{dB} = 0,22 \text{ dB.m}^{-1}$ à 1 MHz et à température ambiante, tandis qu'à $f = 1 \text{ GHz}$ $\alpha_{dB} = 2,2 \cdot 10^5 \text{ dB.m}^{-1}$ ou $0,22 \text{ dB.mm}^{-1}$. Pour des applications de microscopie acoustique on a donc intérêt à limiter le parcours de l'onde à quelques micron-mètres si l'on veut éviter une atténuation importante.

Ce type de perte peut être affecté par l'insertion de particules (gazeuses, liquides ou solides), surtout, si la masse volumique de ces particules est différente du milieu extérieur. Dans ce cas, l'onde incidente induit une oscillation du volume des particules qui sont amorties par la viscosité de l'eau.

2.4.1.b. La conduction thermique

Lorsqu'un matériau est comprimé adiabatiquement, sa température augmente et elle diminue lorsque le matériau se dilate. La conduction thermique entraîne que le processus n'est plus adiabatique ce qui provoque des pertes d'énergie et explique que les métaux atténuent plus que les isolants. L'absorption due à la conductivité thermique varie également avec le carré de la fréquence. L'insertion d'hétérogénéités, comme des particules dans un liquide ou des défauts dans un solide, peut modifier grandement ce type d'absorption. Dans une suspension de particules, la différence de compressibilités entre les deux phases entraîne une pulsation des particules qui sont amorties par le flux de chaleur à l'interface particule/fluide qui est la conséquence de la différence des propriétés thermiques entre les deux phases. Similairement, la taille finie des défauts dans les solides cause une conduction et une expansion inégales des différentes parties du matériau et contribue à l'atténuation de l'onde. Pour ces raisons un milieu monocristallin sans défauts atténue moins qu'un milieu polycristallin.

2.4.1.c. Les modifications de la structure du milieu de propagation

Les molécules d'eau s'associent pour former une structure paracrystalline. L'onde acoustique perd de l'énergie lorsqu'elle perturbe cette structure, ce qui à son tour augmente l'atténuation.

Dans les milieux biologiques les phénomènes d'atténuation restant mal compris. Les résultats expérimentaux conduisent aux valeurs de $\beta \approx 0,5 \text{ dB.MHz}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ et $\gamma \approx 1$ pour des fréquences entre 0,7 et 10 MHz (sang, rate et cerveau) [12].

[12] Bamber J. C., "Attenuation and absorption Physical Principles of Medical Ultrasonics", ed. C.R. Hill (Chichester : Ellis Horwood), pp. 18-190, 1986.

Une description des modifications des processus de dissipation visqueuse et thermique pour le cas d'une suspension de particules fluide a été développée par Epstein et Carhart [13], puis modifiée par Allegra et Hawley [14] pour y inclure les particules solides élastiques. Cette théorie est communément connue sous le nom de modèle de ECAH (Epstein, Carhart, Allegra, Hawley), et permet de prédire l'atténuation et la vitesse effectives d'une onde acoustique dans une suspension de particules.

2.4.2 Atténuation par diffusion

L'atténuation due aux phénomènes de diffusion peut être obtenue en utilisant la méthodologie d'Allegra et Hawley. Le calcul est basé sur la différence entre l'énergie transportée par l'onde incidente et l'énergie des ondes diffusées. Pour une distribution de particules mono – disperses, le coefficient d'atténuation par diffusion (en $Np.m^{-1}$) est défini par:

$$\alpha_d = \frac{3}{2k_0^2} \frac{\phi^v}{R^3} \sum_{m=0}^{\infty} \frac{|C_m^*|^2}{P_0^2} \frac{1}{2m+1} \quad (2.47)$$

où ϕ^v est la fraction volumique de particules.

Si les particules ne sont pas identiques, la fraction volumique des particules de rayon R' est donnée par :

$$\begin{aligned} \phi^v(R') &= \frac{V_p(R')}{V_{eff}} \\ &= \frac{4\pi}{3} n(R') R'^3 \end{aligned} \quad (2.48)$$

et alors

$$\begin{aligned} \alpha_d &= \frac{3}{2k_0^2} \sum_{R'} \frac{\phi^v(R')}{R'^3} \sum_{m=0}^{\infty} \frac{|C_m^*|^2}{P_0^2} \frac{1}{2m+1} \\ &= \frac{2\pi}{k_0^2} \sum_{R'} \sum_{m=0}^{\infty} n(R') \left\{ \frac{|C_m^*|^2}{P_0^2} \frac{1}{2m+1} \right\} \end{aligned} \quad (2.49)$$

Dans le cas de particules homogènes liquides ou solides $C_m^* = C_m$:

[13] Epstein P. S., and Carhart R. R., "The absorption of sound in suspensions and emulsions: I. Water fog in air", *J. Acoust. Soc. Am.*, Vol. 25, pp. 553-565, 1953.

[14] Allegra J. R., and Hawley S. A., "Attenuation of sound in suspensions and emulsions: theory and experiments", *J. Acoust. Soc. Am.*, Vol. 51, pp. 1545-1564, 1972.

$$\alpha_d = \frac{2\pi}{k_0^2} \sum_{R'} \sum_{m=0}^{\infty} n(R') (2m+1) (\sin \eta_m)^2 \quad (2.50)$$

Dans le travail présenté ici, seules les pertes dues aux phénomènes de diffusion seront prises en compte. L'équation (2.49) sera utilisée pour calculer l'atténuation effective du milieu, et ainsi compenser la diminution de l'amplitude de l'onde incidente et des ondes rétrodiffusées lors du chemin de retour à la sonde.

2.5. Modifications du modèle de Faran

2.5.1 Modifications au problème de Faran pour inclure une coque solide élastique

Le problème de la diffusion par une sphère ou cylindre liquide avec une coque solide élastique d'épaisseur T , comme c'est le cas pour les ACU à cœur liquide, est traité par Hasegawa et al. [15]. La solution y est obtenue en suivant la même méthodologie que celle utilisée par Faran, cependant le calcul des coefficients est plus compliqué, car les conditions de bords doivent être appliquées sur deux interfaces concentriques : $r = R$ et $r = R - T$. Dans les deux liquides, interne et externe, la solution de l'équation d'ondes est décrite par un seul potentiel scalaire (disons ψ_I et ψ_{III}) et avec un seul coefficient. Dans la coque solide, il faut utiliser deux potentiels, un scalaire et un vectoriel (ψ_{II} , \vec{A}_{II}). De plus comme dans la coque il n'existe aucune situation de convergence du type $r \rightarrow 0$ ou $r \rightarrow \infty$, le développement en fonctions de Bessel requière l'utilisation de deux coefficients pour chaque potentiel. Le problème consiste alors à résoudre un système de six équations pour chacun des coefficients C_m^* de l'équation.

2.5.2 Incorporation des pertes dissipatives dans le calcul de l'atténuation

Dans le calcul de l'atténuation, si on veut incorporer les pertes dues aux phénomènes dissipatifs visqueux et thermiques, le modèle de ECAH peut être utilisé pour le cas de particules homogènes, et une expression similaire à l'équation (2.46) peut être écrite. En principe, le modèle de Hasagawa pour des particules inhomogènes peut être modifié en suivant la méthodologie de ECAH pour inclure les pertes dissipatives.

[15] Hasegawa T. et al., "Acoustic radiation pressure acting on spherical and cylindrical shells", *J. Acoust. Soc. Am.*, Vol. 93, n°1, pp. 154-161, 1993.

2.5.3 Incorporation des propriétés viscoélastiques de la coque de PLGA

Comme la capsule des ACU est composée d'un polymère viscoélastique, le traitement de la diffusion d'une onde acoustique par une telle particule doit inclure cette propriété ainsi que les pertes associées. Dans le cas plus général de particules encapsulées, le modèle devrait être dérivé de nouveau, comme il l'a été fait par Verdier et Piau [16] pour le modèle de ECAH pour des particules homogènes liquides et solides. Cependant, une sélection adéquate de loi de comportement permet d'incorporer la viscoélasticité linéaire dans la théorie de diffusion acoustique [17, 18].

2.6. Modélisation du paramètre de rehaussement du signal rétrodiffusé – SNR

Du point de vue expérimental, les ondes rétrodiffusées par une distribution de particules d'ACU qui atteignent sur la surface de la sonde, sont transformées en signaux électriques. Ces signaux sont numérisés et un traitement du signal spécifique permet de caractériser le rehaussement produit par la présence des ACU. Ce traitement est basé principalement sur le calcul de la *densité spectrale de puissance* du signal rétrodiffusé qui sera définie dans la suite.

2.6.1 Puissance, énergie des signaux

Pour les signaux déterministes, la puissance d'un signal est déterminée soit à partir de l'expression du signal en fonction du temps, soit à partir de l'expression du signal en fonction de la fréquence.

Dans le cas de signaux aléatoires, il existe, des relations¹⁹ entrées sorties qui avec le théorème de Wiener-Kintchine conduisent à la notion de densité spectrale de puissance (dsp en français)²⁰. Cette densité spectrale donne une représentation énergétique du signal aléatoire dans l'espace des fréquences. Cependant, comme la puissance totale du signal est une

[16] Verdier C., and Piau M., "Acoustic wave propagation in two-phase viscoelastic fluids: the case of polymer emulsions", J. Acoust. Soc. Am., Vol. 101, n° 4, pp. 1868-1876, 1997.

[17] Charlier J-P., and Crowet F., "Wave equations in linear viscoelastic materials", J. Acoust. Soc. Am., Vol. 79, n°4, pp. 895-900, 1986.

[18] Hipp A.K., Adjadj L. P., Storti G. and Morbidelli M., "Incorporating linear viscoelasticity into acoustic scattering theory (L)", J. Acoust. Soc. Am., Vol. 111, n°4, pp. 1549-1551, 2002.

¹⁹ Ceci est vrai s'il s'agit de systèmes linéaires.

²⁰ Dans ce document, la densité spectrale de puissance sera désignée sous l'appellation anglo-saxonne PSD (Power Spectral Density), ou densité spectrale, ou simplement spectre de puissance.

quantité finie (énergie de l'impulsion), elle ne peut être définie que dans un intervalle de temps Δt , ou dans un intervalle de fréquence Δf définis.

Dans notre cas, l'échantillon est constitué d'un ensemble de particules constamment en mouvement (brownien), et donc, l'étude doit être basée sur une analyse statistique, en considérant un nombre fini de configurations. Cependant, comme dans le domaine temporel, les configurations successives de particules peuvent être considérées comme aléatoires, la moyenne en amplitude du signal rétrodiffusé sur un nombre important de configurations produit un résultat nul. Pour cette raison, il est nécessaire de travailler dans le domaine fréquentiel (moyenne fréquentielle) dans lequel les caractéristiques du signal rétrodiffusé sont plus étroitement liées aux propriétés physiques des particules (composante incohérente) [21].

Dans le domaine fréquentiel, la densité spectrale de puissance $PSD_x(f)$ du signal temporel $x(t)$ est définie par sa transformée de Fourier $X(f)$:

$$PSD_x(f) = |X(f)|^2 \quad (2.51)$$

Ceci montre que $PSD_x(f)$ est une fonction réelle et positive.

Une propriété importante de la densité spectrale de puissance, est son équivalence avec la transformée de Fourier de la fonction d'auto-corrélation $S_{xx}(f)$ du signal $x(t)$:

$$\begin{aligned} PSD_x(f) &\equiv S_{xx}(f) \\ &= \int_{-\infty}^{\infty} S_{xx}(t) e^{-i\omega t} dt \end{aligned} \quad (2.52)$$

Avec

$$S_{xx}(t) = \langle x(t), x(t) \rangle = \int_{-\infty}^{\infty} x(t) x^*(t+\tau) d\tau \quad (2.53)$$

À partir de l'équation 2.52 on peut définir la puissance totale (ou énergie) du signal dans une bande de fréquence Δf , centrée autour de f_0 , comme :

$$P_x(f_0, \Delta f) = \frac{1}{\Delta f} \int_{f_0 - \frac{\Delta f}{2}}^{f_0 + \frac{\Delta f}{2}} PSD_x(f) df \quad (2.54)$$

[21] Shung K. K., and Thieme G. A., "Ultrasonic Scattering in biological tissues", Chap. 4, 1993.

2.6.2 Définition du paramètre de rehaussement SNR

La caractéristique principale des ACU est de rehausser le signal rétrodiffusé par le flux sanguin. C'est la raison pour laquelle la puissance du signal rétrodiffusé est mesurée par rapport au bruit électronique inhérent du système. La modélisation du signal rétrodiffusé devrait être faite en considérant la composante bruit du système, qui dans ce cas joue le rôle du signal de référence.

Si on considère la composante du bruit comme un bruit blanc additif $\zeta(t)$, on peut définir le signal rétrodiffusé $x_s(t)$ et le signal de référence $x_b(t)$ reçus par la sonde comme :

$$x_s(t) = v_{rd}(t) + \zeta(t) \quad (2.55)$$

$$x_b(t) = \zeta'(t)$$

où $v_{rd}(t)$ est le signal (sans bruit) rétrodiffusé par la solution de particules d'ACU.

et $\zeta'(t)$ correspond à la réception sans signal

Le paramètre de rehaussement est donc défini comme le rapport entre la densité spectrale de puissance (PSD) du signal rétrodiffusé et celle du bruit :

$$SNR_p(f) = 10 \log \left\{ \frac{PSD_s(f)}{PSD_b(f)} \right\} \quad (2.56)$$

Il est alors utile de considérer la définition du bruit blanc :

$$\langle \zeta(t) \rangle = 0 \quad (2.57)$$

$$\langle \zeta(t), \zeta(t) \rangle = \frac{\zeta_0 \delta(t)}{2}$$

où ζ_0 est la densité spectrale de puissance

et $\delta(t)$ l'impulsion de Dirac.

En appliquant cette définition, la PSD du signal rétrodiffusé est donnée par :

$$\begin{aligned} PSD_s(f) &= |v_{rd}(f)|^2 + 2 \operatorname{Re} \left[\int_{-\infty}^{\infty} \langle v_{rd}(t), \zeta(t) \rangle e^{-i\omega t} dt \right] + |\zeta(f)|^2 \\ &\approx |v_{rd}(f)|^2 + \frac{\zeta_0}{2} \end{aligned} \quad (2.58)$$

L'intégrale est nulle si le signal $v_{rd}(t)$ (sans bruit) rétrodiffusé et $\zeta^*(t)$ sont décorrélés.

Donc, le paramètre du rehaussement (équation 2.56) est donné par :

$$\begin{aligned} SNR_p(f) &= 10 \log \left\{ \frac{2|v_{rd}(f)|^2 + \zeta_0}{\zeta'_0} \right\} \\ &\approx 10 \log \left\{ 1 + \frac{2|v_{rd}(f)|^2}{\zeta_0} \right\} \end{aligned} \quad (2.59)$$

où l'on a considéré que le signal rétrodiffusé et le signal de référence sont acquis dans les mêmes conditions expérimentales ($\zeta'_0 \approx \zeta_0$).

L'expression 2.59 prend seulement en compte une configuration particulière de la distribution de particules. Si la configuration est modifiée, le signal rétrodiffusé peut être fortement affecté. Donc, pour ne pas dépendre d'une configuration particulière de particules, il est nécessaire de considérer uniquement la composante incohérente du signal rétrodiffusé. Dans la pratique, la composante incohérente du signal rétrodiffusé (indépendante de la configuration) est extraite en calculant la moyenne dans le domaine de Fourier de plusieurs signaux rétrodiffusés correspondant à différentes configurations de particules. Donc l'équation 2.59 devient :

$$\begin{aligned} SNR_p(f) &= 10 \log \left\{ \frac{\langle PSD_s(f) \rangle}{\langle PSD_b(f) \rangle} \right\} \\ &\approx 10 \log \left\{ 1 + \frac{2 \langle |v_{rd}(f)|^2 \rangle}{\zeta_0} \right\} \end{aligned} \quad (2.60)$$

Ceci met en évidence la dépendance du SNR envers les caractéristiques expérimentales (i.e. le niveau de bruit). Si la même solution est analysée dans différentes conditions expérimentales avec différentes caractéristiques de bruit, différentes valeurs du SNR seront obtenues.

2.6.3 Modélisation du signal rétrodiffusé

Pour lier le paramètre de rehaussement de signal avec les modèles théoriques (équation 2.37), une méthode de substitution doit être utilisée de façon à compenser les effets électromécaniques de la sonde, les pertes aux interfaces et les pertes dues à l'atténuation produite par la solution d'ACU elle-même. Ces méthodes sont les mêmes que celles qui sont utilisées pour la détermination expérimentale du coefficient de rétrodiffusion

En particulier, ici nous utilisons la méthode décrite par O'Donnell et Miller [22]. Les effets électromécaniques y sont compensés par le signal reflété par une plaque métallique placée à la distance focale Z_F de la sonde. Ce signal permet de calculer la fonction de transfert de rétrodiffusion (*backscatter transfer function*) qui est définie comme $\langle |S(f)|^2 \rangle$ le rapport entre la composante incohérente du signal rétrodiffusé et le spectre du signal reflété par la plaque métallique $PSD_p(f)$. Comme dans notre cas, l'écho de la plaque est établi par réflexion sur le fond métallique de la cellule de mesure avec la membrane de PVC® située dans le champ acoustique, les pertes dues à cette interface sont aussi compensées (annexe 2).

$$\langle |S(f)|^2 \rangle = \frac{\langle |v_{rd}(f)|^2 \rangle}{PSD_p(f)} \quad (2.61)$$

La compensation des pertes liées à l'atténuation est faite grâce à la fonction²³ :

$$F(\alpha(f), z_0, L) = e^{4\alpha(f)z_0} \left(\frac{4\alpha(f)L}{e^{2\alpha(f)L} - e^{-2\alpha(f)L}} \right) \quad (2.62)$$

où z_0 est la distance entre l'interface eau-échantillon et le centre du volume effectif (figure 2.4).

Si l'atténuation est négligeable $F(\alpha(f), z_0, L)$ devient égale à l'unité. Le coefficient de rétrodiffusion peut être écrit comme :

$$\eta_{rd}(f) = R_p^2 \left(\frac{Z_F}{2} \right)^2 \frac{\langle |S(f)|^2 \rangle}{V_{eff}} F(\alpha(f), z_0, L) \quad (2.63)$$

où R_p est le coefficient de réflexion de la plaque métallique.

Le volume effectif est défini comme un cylindre de diamètre $2b$ inférieur au diamètre de l'élément piézoélectrique de la sonde ($2a = 3$ mm) et d'une longueur $L \approx \frac{1}{2} c_{||,0} \Delta$, avec Δ égale à la durée de la fenêtre temporelle utilisée pour extraire les signaux rétrodiffusés.

On peut donc utiliser les équations 2.61 et 2.63 pour écrire la PSD moyenne du signal rétrodiffusé en fonction du coefficient de rétrodiffusion :

[22] O'Donnell M., and Miller J. G., "Quantitative broadband ultrasonic backscatter: An approach to non-destructive evaluation in acoustically inhomogeneous materials", *J. Appl. Phys.*, Vol. 52, n°2, pp. 1055-1065, 1981.

²³ Atténuation en $Np.m^{-1}$

$$\begin{aligned} \langle |v_{rd}(f)|^2 \rangle &= \langle |S(f)|^2 \rangle PSD_p(f) \\ &= \frac{4V_{eff}}{Z_F^2 R_p^2} \left[\frac{PSD_p(f)}{F(\alpha(f), z_0, L)} \right] \eta_{rd}(f) \end{aligned} \quad (2.64)$$

Le paramètre de rehaussement peut alors être écrit comme²⁴ :

$$SNR_p(f) = 10 \log \left\{ 1 + \frac{8\pi b^2 L}{\zeta_0 Z_F^2 R_p^2} \Gamma_s(f) \eta_{rd}(f) \right\} \quad (2.65)$$

où la fonction $\Gamma_s(f)$ représente les facteurs de compensation qui dépendent de la fréquence (terme entre crochets de l'équation 2.64).

Dans la pratique, l'équation 2.65 sera utilisée pour estimer la valeur du $SNR_p(f)$ pour les particules pleines de PLGA et caractériser ainsi leurs propriétés physiques en utilisant la théorie de Faran (ou Morse et Ingard). Cependant, il est nécessaire de disposer d'un processus de calibrage qui utilise des particules de contrôle, comme par exemple des particules de polystyrène de propriétés connues, pour déterminer la constante inconnue b^2/ζ_0 . On peut alors considérer la distribution de particules comme mono-disperse ou supposer une distribution gaussienne, et appliquer la théorie de Faran pour calculer le coefficient de rétrodiffusion et le facteur de compensation d'atténuation (équations 2.37, 2.50 et 2.62). La puissance du signal de l'écho réfléchi par la plaque métallique peut être définie empiriquement à partir de l'expérience, et le coefficient de réflexion R_p peut être considéré égal à l'unité.

2.7. Conclusion

La description du paramètre de rehaussement de contraste (rapport SNR) en termes de coefficient de rétro-diffusion (équations 2.65, 2.37, 2.36 et 2.27) nous permet faire un lien direct

²⁴ L'équation 2.64 peut s'exprimer plus simplement lorsque le volume des diffuseurs V_{eff} est placé à une distance Z_F loin de la sonde et que les dimensions des diffuseurs sont petites (L, b) devant cette distance. Alors, en diffusion simple on peut écrire :

$$\langle |v_{rd}(f)|^2 \rangle \approx A_{a-e}(f) |P_{inc}(f)|^2 V_{eff} \frac{\eta_{rd}(f, R)}{Z_F^2}$$

La fonction de conversion acoustique-électronique A_{a-e} et la pression de l'onde acoustique incidente $P_{inc}(f)$, peuvent être compensées si l'on mesure l'écho réfléchi par une plaque métallique placée à la même distance Z_F :

$$PSD_p(f) \approx R_p^2 A_{a-e}(f) |P_{inc}(f)|^2 \Rightarrow \langle |v_{rd}(f)|^2 \rangle \approx \frac{V_{eff}}{Z_F^2 R_p^2} PSD_p(f) \eta_{rd}(f, R)$$

entre les résultats expérimentaux et un modèle de diffusion simple (Faran et Hasegawa). L'effet de la concentration de particules et des propriétés physiques de leurs matériaux constituants peut être alors étudié sur la base de ces modèles.

Dans la suite nous décrirons en détail le processus de traitement des signaux rétrodiffusés et de leur optimisation. Nous étudierons aussi les propriétés du bruit afin de valider nos hypothèses (équation 2.58).

Chapitre 3 : Matériaux et Méthodes

3.1 Matériaux : Micro et nanoparticules de PLGA à cœur liquide

Les ACU actuellement disponibles à base de gaz perfluorocarbone sont pour l'instant peu stables. Emilia Pisani, Nicolas Tsapis et Elias Fattal de l'UMR CNRS 8612, ont modifié la méthode d'émulsion-évaporation de solvant [1] et ont réussi à obtenir des coques polymériques stables renfermant un cœur fluide perfluorocarboné (figure 3.1) [2, 3].

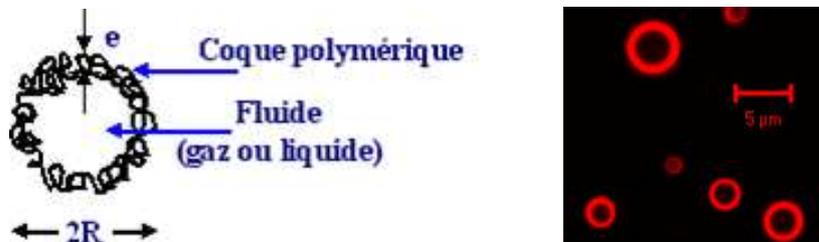


Figure 3.1. Schéma des micro-particules polymériques encapsulant un cœur perfluorocarboné fluide (gauche). Coupe des micro-particules obtenues en microscopie confocale, le polymère est en rouge tandis que le cœur perfluoré apparaît en noir (droite, la barre représente 5 micromètres).

L'avantage de cette méthode est qu'il est possible faire varier avec précision :

- Le rayon R , des particules de 70 nm à 25 μm
- L'épaisseur T (notée e sur la figure 3.1) de la coque,

[1] A. Loxley and B. Vincent, "Preparation of poly(methylmethacrylate) microcapsules with liquid cores", *J. Coll. Int. Sci.*, Vol. 208, pp. 49-62, 1998.

[2] Thèse d'Emilia Pisani soutenue le 3 février 2006 à l'Université de Paris XI "Conception et caractérisation des capsules polymériques comme produits de contraste pour l'imagerie médicale".

- Les propriétés mécaniques de la coque.

Dans ce travail nous avons étudié des *ACU* dont la taille moyenne, $2R$, est variable, et le rapport d'épaisseur-taille T/R varie entre 0,2 et 0,6.

3.1.1 Les ingrédients

3.1.1.1 Le polymère PLGA pour la coque

L'acide poly(lactique-co-glycolique) (*PLGA*) est un copolymère biodégradable et biocompatible approuvé par la *FDA* (Food and Drug Administration, USA) pour être utilisé comme vecteur d'agents thérapeutiques. Le *PLGA* est synthétisé au moyen de co-polymérisation aléatoire en forme d'anneau ouvert de deux monomères : l'acide glycolique ($C_2H_4O_3$) et l'acide lactique ($C_3H_6O_3$) [4]. Ces deux monomères sont présents dans l'organisme comme sous-produits de divers mécanismes du métaboliques, ce qui donne au *PLGA* sa caractéristique non-toxique. Pendant la polymérisation, des unités successives de monomères (acide glycolique ou lactique) se lient dans le *PLGA* par des liaisons ester, en produisant un polyester linéaire et aliphatique.

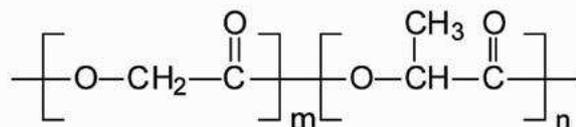


Figure 3.2. Structure unitaire de *PLGA*. Les indices m et n , indiquent le nombre d'unités d'acide glycolique et lactique.

Selon le rapport entre le nombre d'unités d'acide glycolique et lactique, différentes formes de *PLGA* peuvent être obtenues et il est commun de mentionner le rapport entre monomères pour en identifier le type. Par exemple, le *PLGA* 75:25 indique que le copolymère est composé à 75 % d'acide glycolique et à 25 % d'acide lactique. Le *PLGA* est un polymère amorphe avec une température de transition vitreuse comprise dans la gamme de 40 – 60 °C. Soluble dans une grande gamme de solvants il se dégrade par hydrolyses des liaisons ester. Le temps nécessaire pour sa dégradation dépend principalement du rapport entre les monomères utilisés ce temps diminue lorsque la composante glycolique augmente, sauf pour le rapport 50 : 50 qui présente le temps de dégradation le plus court (environ 2 mois). C'est la coque des particules étudiés dans ce travail.

3.1.1.2 Les perfluorocarbones comme fluide encapsulé

Les perfluorocarbones (*PFC*) sont des composants dérivés des hydrocarbures, produits par le remplacement des atomes d'hydrogène par des atomes de fluore. Ils sont liquides à

[3] E. Pisani, N. Tsapis, J. Paris, V. Nicolas, L. Cattell, and E. Fattal, "Polymeric Nano/Microcapsules of liquid Perfluorocarbons for Ultrasonic Imaging: Physical Characterization", *Langmuir*, Vol. 22 (9), pp. 4397-4402, 2006.

température ambiante, chimiquement inertes, et de base solubilité dans l'eau et donc de faibles taux de diffusion. Dans le développement des ACU, les PFC de bas point d'ébullition sont utilisés pour remplacer l'air dans les microbulles et augmenter ainsi leur stabilité. Leur permanence dans le système intra-vasculaire dépend essentiellement de leur poids moléculaire. Ils sont éliminés sans modification, par les poumons après leur passage par le système réticuloendothéliaux. Leurs propriétés physiques dépendent principalement de la longueur de leur chaîne (C_xF_y), et de la température [5].

PFC	Formule	PM (u)	ρ_{PFC} (g/ml)	c_{PFC} (m/s)	T_e (°C)
Perfluoropentane	C_5F_{12}	288,03	1,62		26-36
Perfluorohexane	C_6F_{14}	338	1,68		58-60
Perfluoroheptane	C_7F_{16}	388	1,73	543	
Perfluoro-l-butyltetra hydrofurane	$C_8F_{14}O$	416,1	1,76	576	
Perfluorooctane	C_8F_{18}	438,1	1,76	581	
Perfluorodecalin	$C_{10}F_{18}$	462,1	1,93	684	142-144
Perfluoro dichlorooctane	$C_8F_{16}Cl_2$	471	1,79	675	
Perfluoro octylbromide	$C_8F_{17}Br$	499	1,92	624	140,5

Tableau 3.1. Propriétés physiques de divers types de PFC. PM : poids moléculaire, ρ_{PFC} : masse volumique (à 25 °C), c_{PFC} : vitesse ultrasonore (à 25 °C) et T_e : température d'ébullition.

3.1.2 Fabrication des particules

Nous avons indiqué plus haut que la méthode de préparation et les techniques de caractérisation des propriétés morphologiques des ACU utilisés dans ce travail sont décrites en détail dans la thèse d'Emilia Pisani [2, 3]. Nous nous contenterons ici d'en décrire les grandes lignes. La phase organique des ACU est obtenue en mélangeant la masse souhaitée de PLGA et le volume correspondant de PFC liquide à une solution de 4 ml de chlorure de méthylène CH_2Cl_2 (point d'ébullition de 39,98 °C) de façon à produire des rapports entre l'épaisseur de la capsule et le rayon (T/R), compris entre 0,2 et 0,6. Le solvant, le chlorure de méthylène, permet de dissoudre complètement le PLGA. Le mélange doit être maintenu dans un bain thermostatique à 20 °C pour assurer la parfaite miscibilité du PFC. La phase organique est alors émulsifiée dans 20 ml d'une solution aqueuse de chlorate de sodium à 1,5 % w/v (weight/volume) en utilisant un Ultraturrax T25 (IKA, Staufen, Allemagne) muni d'un outil de dispersion SN25-10G à une vitesse de rotation comprise entre 8000 et 24500 tours/minute. La

[4] Astete, C. E. and Sabliov, C. M.. "Synthesis and characterization of PLGA nanoparticles". *Journal of Biomaterials Science - Polymer Edition*, Vol.17 (3), pp. 247-289, 2006.

[5] Marsh J. N., et al., "Temperature dependence of acoustic impedance for specific fluoro-carbon liquids", *J. Acoust. Soc. Am.*, Vol. 112, n°6, pp. 2858-2862, 2002.

vitesse de rotation permet de contrôler la taille des particules entre des valeurs moyennes de 1 et 25 μm pour des vitesses de 24500 et 1000 tours/minute respectivement. Le processus d'émulsification est réalisé dans de la glace pendant 2 minutes. Finalement, le chlorure de méthylène est évaporé sous agitation magnétique pendant 3 heures à 300 tours/minute dans le bain thermostatique à 20 °C.

Pour l'obtention de nanocapsules, une pré-émulsion est préparée comme décrit ci-dessus à 8000 tours/minute pendant 30 secondes, puis la diminution de taille est réalisée par "sonification" en utilisant une sonde métallique (IBP7677, Ultrasons Annemasse, France) sur glace pendant 2 minutes. La puissance de sonification est ajustée en variant la tension appliquée entre 40 et 140 V pour produire des particules de tailles moyennes comprises entre 200 et 70 nm respectivement.

Pendant le processus d'émulsification, la basse miscibilité des *PFC* dans le chlorure de méthylène entraîne, si les conditions de mouillage sont correctes, que la composition atteint rapidement la frontière binodale et la phase polymérique se sépare en petites gouttes de liquide riches en solvant et polymère *PLGA* à l'intérieur des particules de *PFC*. Ces gouttes de solvant-polymère sont mobiles et diffusent vers l'interface *PFC/eau* où elles se dispersent et se fondent pour englober la goutte originale de *PFC*. L'évaporation postérieure du chlorure de méthylène conduit à la précipitation du polymère formant ainsi la capsule. Néanmoins, si les conditions de mouillage ne sont pas adéquates, d'autres morphologies peuvent apparaître, en fonction des différentes tensions superficielles aux interfaces [6]. Le tensioactif chlorate de sodium permet d'obtenir des conditions favorables et de produire la structure souhaitée.

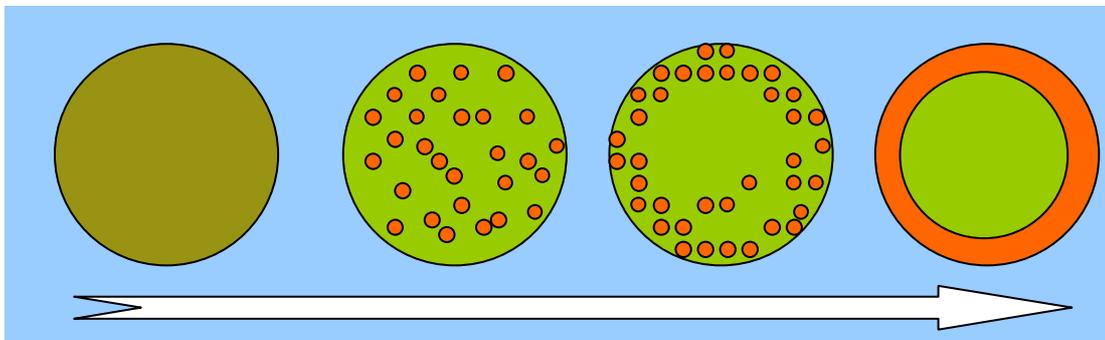


Figure 3.3. Formation de la capsule de PLGA des microgouttes de PFC en solution aqueuse. Nucléation des gouttes de solvant-polymère (orange), migration vers l'interface PFC/eau et précipitation sous forme de capsule.

Finalement, les micro et nanoparticules sont lyophilisées pour un stockage à long terme. Elles conservent leurs caractéristiques structurales même sous forme de poudre. Dans ce processus, les capsules sont congelées à - 20°C en utilisant poly(vinyl alcool) (*PVA*) comme agent cryo-protecteur, et postérieurement séchés pendant 24 - 48 heures en utilisant un lyophilisateur LYOVAC GT2 (GEA, Niro Pharma Systems).

La morphologie des microcapsules est contrôlée par microscopie optique de fluorescence où l'addition d'une petite quantité de rouge nille (typiquement 100 μL) à la phase organique permet de marquer le polymère. L'image montre des particules sphériques avec une capsule d'épaisseur homogène marquée en couleur rouge et un noyau plus foncé. En plus, les différents plans obtenus par microscopie confocale, montrent que les cavités sont bien centrées dans les particules et que l'épaisseur de la capsule est homogène [2, 3].

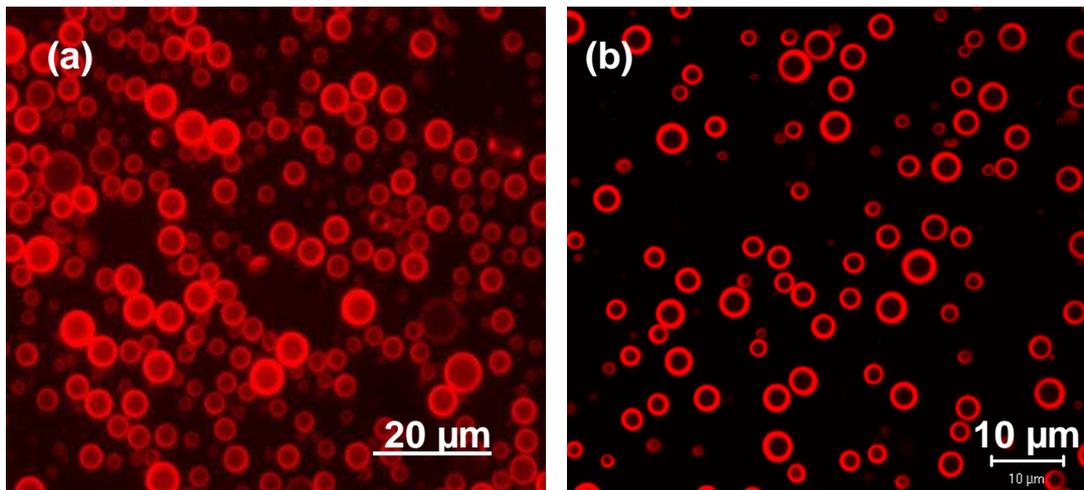


Figure 3.4. Caractérisation des propriétés morphologiques des micro-particules (vérification de l'homogénéité de l'épaisseur de la capsule). (a) microscopie de fluorescence. (b) microscopie confocale.

Différents types de PFC ont été évalués : perfluorooctylbromide (PFOB), perfluorohexane (PFH), perfluorodecalin (PFD) et perfluoropentane. Les capsules n'ont pu être obtenues qu'avec les trois premiers. L'échec de la création d'ACU avec du perfluoropentane est probablement dû à son bas point d'ébullition qui est proche de la celui du chlorure de méthylène. Des trois types de PFC, le PFOB a été choisi pour sa non-toxicité [7, 8]. La morphologie de la surface des capsules est évaluée par microscopie électronique à balayage (SEM). La figure 3.5 montre des particules sphériques de surfaces lisses. L'effondrement de quelques particules confirme l'existence de cavités. La présence de PFOB est vérifiée au moyen de techniques de spectroscopie : résonance magnétique nucléaire de type C (C NMR) et chromatographie en phase gazeuse associée à la spectroscopie de masse (GC-MS).

[6] Torza S., and Manson S. G., "Three-phase interactions in shear and electrical fields", *J. Colloid Interface Sci.*, Vol. 33, n°1, pp. 67-83, 1970.

[7] Leese P. T., et al., "Randomized safety studies of intravenous perflubron emulsion. I. Effects on coagulation function in healthy volunteers", *Anasth. Analg.*, Vol. 91, n°4, pp. 804-811, 2000.

[8] Noveck R. J., et al., "Randomized safety studies of intravenous perflubron emulsion. II. Effects on immune function in healthy volunteers", *Anasth. Analg.*, Vol. 91, n°4, pp. 812-822, 2000.

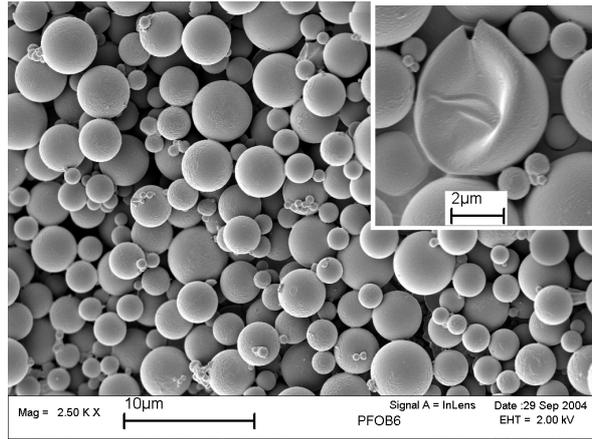


Figure 3.5. SEM : Vérification des propriétés superficielles des microcapsules.

Pour les nanocapsules, les techniques de microscopie électronique à balayage de cryofracture (FFEM) et de microscopie électronique à transmission (TEM), permettent de vérifier que la morphologie cœur-capsule a été préservée pendant la réduction de taille.

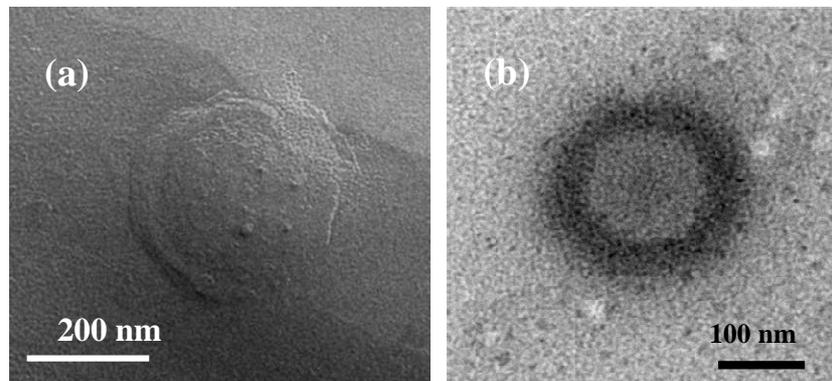


Figure 3.6. Caractérisation des propriétés morphologiques des nanoparticules. (a) Microscopie FFEM. (b) Microscopie TEM.

Les techniques mentionnées ici sont utilisées pour caractériser les propriétés structurales des micro/nano-capsules : taille moyenne ($2R$) et le rapport d'épaisseur (T/R). Les mesures de la taille moyenne et de l'épaisseur de capsule pour un rapport fixe de *PFOB/PLGA* montrent que le rapport T/R reste constant pour différentes vitesse d'émulsification (ou de puissance de sonication). La polydispersité est caractérisée par granulométrie basée en diffraction laser et par diffusion quasi-élastique de la lumière.

3.2 Méthodes expérimentales - In vitro

Les méthodes expérimentales présentées ci-après sont dédiées à l'étude du rehaussement du signal rétrodiffusé par une solution d'*ACU*.

3.2.1 Dispositif expérimental

Le système de mesures (figure 3.7) est constitué d'une cellule de mesure remplie de solvant (généralement de l'eau distillée) et dont la partie inférieure est adaptée pour recevoir la solution d'ACU. Un système d'agitation magnétique permet de limiter la décantation des particules d'ACU au cours de la mesure. Celles-ci sont isolées du milieu extérieur par un film de PVC alimentaire d'une épaisseur d'environ 10 μm . Une sonde ultrasonore focalisée (Panametrics, fréquence centrale de 50 MHz, diamètre de 3,0625 mm et distance focale de 12,25 mm) est positionnée par un système de contrôle motorisé de 4 degrés de liberté, de manière à en situer le foyer légèrement au-dessous du film de PVC, avec son axe perpendiculaire à la base de la cellule. Un générateur d'impulsions (Panametrics model 5900) excite, en mode émission-réception, la sonde avec une énergie de 1 μJ , les signaux sont filtrés par un filtre passe-bande de 1-100 MHz. A la réception, l'oscilloscope numérique LeCroy® 9450 A numérise sur 8 bits les signaux à une fréquence d'échantillonnage de 400 MHz. Ces signaux sont ensuite enregistrés sur disque dur via le bus HPIB, grâce à un programme développé sous l'environnement LabVIEW® de National Instruments.

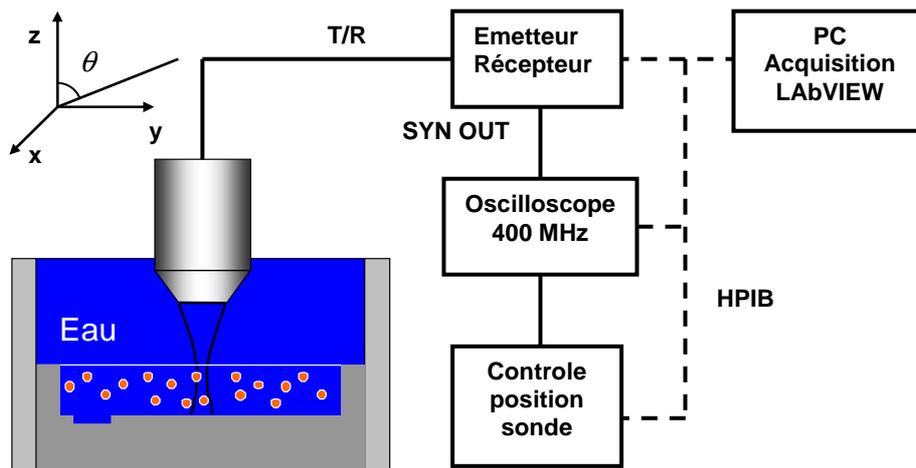


Figure 3.7. Schéma du dispositif expérimental : mesures *in vitro* du signal rétro-diffusé par une solution de PCUS. T/R : Transmission/Reception, SYN OUT : signal de synchronisation, HPIB : bus de communication.

3.2.1.1 Optimisation de la position de la sonde

Cette procédure consiste de placer la cellule de mesure le plus perpendiculairement possible par rapport au faisceau acoustique et de trouver la distance focale du faisceau acoustique. Ces deux procédures sont faites par la maximisation de l'amplitude de l'écho du fond de la cellule. La perpendicularité du faisceau est établie soit par la variation de l'angle d'inclinaison de la sonde (θ) ou des deux angles d'inclinaison de la plate-forme sur laquelle est montée la cellule. D'après avoir rendu le faisceau perpendiculaire au fond de la cellule, la sonde est déplacée longitudinalement dans la direction z pour déterminer la position du foyer⁹ (environ 16 μs) et le

⁹ Ceci est valable si l'atténuation est suffisamment faible.

marqueur temporel de l'oscilloscope est activé pour pouvoir ainsi postérieurement placer le foyer juste en bas du film de PVC.

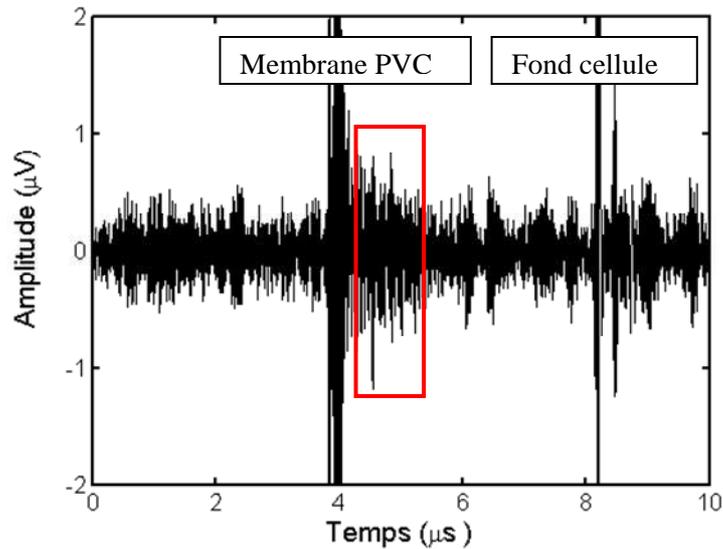


Figure 3.8. Signal typique acquis (lot : 120506). L'amplitude est calculée en tenant compte de l'atténuation et du facteur de gain de l'émetteur-récepteur (38 dB). Le cadre indique le signal rétrodiffusé provenant de la solution proche de la membrane de PVC.

La figure 3.8 montre un signal typique acquis par notre système. Il s'agit ici d'une solution de 42 mg/ml d'ACU de rayon moyen $R = 3 \mu\text{m}$, de cœur PFOB, et une capsule de paramètre d'épaisseur $T/R=0,35$ ($T = 1,05 \mu\text{m}$). Les deux échos clairement observés, proviennent de la réflexion partielle de l'impulsion acoustique sur la membrane séparant le milieu externe de la solution et de la réflexion produite par la paroi inférieure de la cellule. La région d'intérêt du signal (signaux rétrodiffusés) se situe donc entre ces deux échos (cadre rouge sur la figure 3.8).

3.2.1.2 Traitement des signaux rétrodiffusés

Nous appellerons signal : le signal rétrodiffusé par la solution d'ACU et le bruit : le signal diffusé par le solvant pur.

3.2.1.2.a Densité Spectrale de Puissance

La densité spectrale de puissance PSD (Power Spectrum Density) d'un signal numérique est souvent calculée en utilisant l'algorithme de la transformée rapide de Fourier ou en anglais FFT (Fast Fourier Transform). Nous utiliserons ici une méthode plus générale, appelée méthode du périodogramme, décrite dans "Numerical Recipes" [10]. Cette méthode, offre une estimation plus correcte de l'énergie du signal, car elle considère les deux parties de la transformée de

[10] Press W. H., Flannery B. P., Teukolsky S. A., Vetterling W. T., "Numerical Recipes: The Art of Scientific Computing", University of Cambridge, chapter 13, 1988.

Fourier générées par l'algorithme de la *FFT* et un facteur de normalisation qui dépend du type de filtre temporel (ou fenêtre) utilisée pour extraire le domaine d'intérêt du signal.

Le filtre temporel est nécessaire pour extraire la partie intéressante du signal. Pour cette étape, il est recommandé de choisir un filtre qui produise une transition graduelle de 0 à 1 aux bords de la fenêtre, de façon à limiter les hautes fréquences produites par les transitions (0 → 1 ou 1 → 0) lors du calcul de la transformée de Fourier. Les fenêtres les plus connues sont: les fenêtres rectangulaires, de Hamming, de Hann (ou Hanning) et de Bartlett, qui sont illustrées dans la Figure 3.9. Nous y présentons aussi la fenêtre de Tukey ou Tukey-Hann [11], qui est définie comme une fenêtre type rectangulaire dont les bords sont de type Hann, selon le paramètre h : $h=0$ correspond à une fenêtre rectangulaire et, $h=1$ correspond à une fenêtre de Hann. Dans la pratique, on peut observer que les différents types de fenêtres conduisent à des différences inférieures aux erreurs statistiques du calcul de SNR.

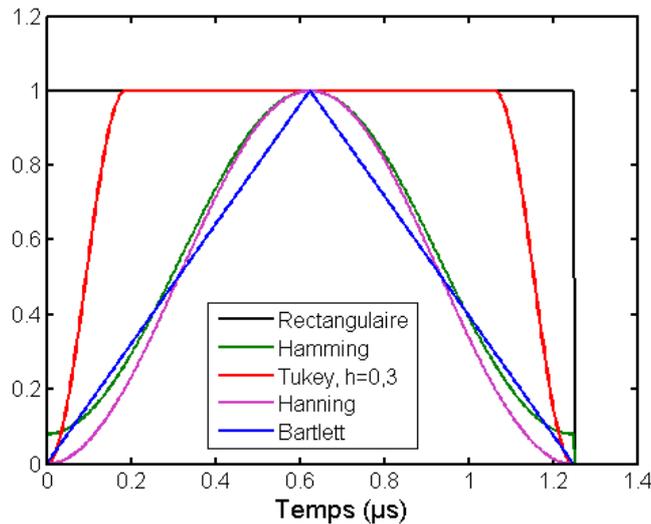


Figure 3.9. Forme de différentes fenêtres temporelles utilisées pour sélectionner le domaine d'intérêt du signal à traiter.

A moins que l'on indique le contraire, la fenêtre de Hann, présentée dans l'équation 3.1, sera utilisée pour toute l'étude *in vitro*. Elle est définie par la relation suivante :

$$w_j = \frac{1}{2} \left[1 - \cos \left(2\pi \frac{j-1}{\Delta-1} \right) \right] \quad j = 1, \dots, \Delta \quad (3.1)$$

où w_j est l'amplitude du filtre temporel (ou fenêtre temporelle)

et Δ la longueur de la fenêtre du filtre temporel (ou fenêtre temporelle)

La fenêtre de Tukey (équation 3.2) sera uniquement utilisée dans l'étude *in silico*. Elle s'exprime sous la forme :

[11] Harris, F. J., "On the Use of Windows for Harmonic Analysis with the Discrete Fourier Transform", *Proceedings of the IEEE*, Vol. 66, January 1978, pp. 66-67.

$$w_j = \begin{cases} \frac{1}{2} \left[1 + \cos \left(\frac{2\pi}{h} \frac{(j-1)}{\Delta-1} - \pi \right) \right] & j < \frac{h}{2}(\Delta-1) + 1 \\ 1 & \frac{h}{2}(\Delta-1) + 1 \leq j \leq \Delta - \frac{h}{2}(\Delta-1) \\ \frac{1}{2} \left[1 + \cos \left(\frac{2\pi}{h} - \frac{2\pi}{h} \frac{(j-1)}{\Delta-1} - \pi \right) \right] & \Delta - \frac{h}{2}(\Delta-1) < j \end{cases} \quad (3.2)$$

où h est paramètre de Hann du filtre temporel de Tukey.

Un résultat typique obtenu en appliquant un filtre de Hann au signal de la figure 3.8, est présenté sur la figure 3.10.

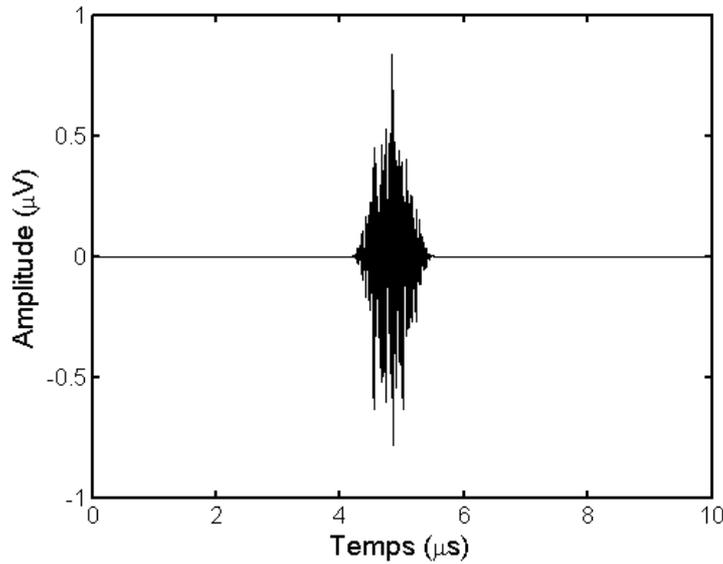


Figure 3.10. Résultat du filtrage temporel à l'aide du filtre de Hann du signal présenté dans la figure 3.8.

Soit $[c_j]$ le vecteur représentant le signal temporel numérisé sur N_s points également espacés avec une résolution temporelle ΔT et $[w_j]$ le filtre temporel ou (fenêtre temporelle), la transformée de Fourier discrète du signal filtré est :

$$D_k = \sum_{j=1}^{N_s} c_j w_k e^{2\pi(1-j)(1-k)/N_s}, \quad k = 1, \dots, N_s \quad (3.3)$$

La densité spectrale de puissance $PSD(f_k)$ est alors définie pour $\frac{N_c}{2} + 1$ fréquences de la manière suivante [7]:

$$PSD(f_k) = \begin{cases} \frac{1}{W_{ss}} |D_1|^2 & k = 1 \\ \frac{2}{W_{ss}} |D_k|^2 & k = 2, \dots, N_s/2 \\ \frac{1}{W_{ss}} |D_{N_s/2+1}|^2 & k = N_s/2 \end{cases} \quad (3.4)$$

La symétrie de la *FFT* du signal filtré est prise en compte par le coefficient 2 dans l'équation 3.4.

W_{ss} est le facteur de normalisation défini en considérant le filtre temporel w_j appliqué :

$$W_{ss} = N_s \left(N_s - \Delta + \sum_{j=1}^{\Delta} w_j^2 \right) \quad (3.5)$$

où Δ est la durée réelle de la fenêtre.

Le tableau de fréquences f_k est défini comme :

$$f_k = \frac{k}{N_s \Delta T}, \quad k = 1, \dots, N_s/2 + 1 \quad (3.6)$$

Le calcul de la PSD moyenne, requiert le moyennage des densités spectrales obtenues à partir de M signaux acquis. La figure 3.11 montre la *PSD* moyennée pour $M = 100$ acquisitions réalisées lors de l'expérience montrée sur la figure 3.7 en couleur bleue le signal de référence correspond à la courbe en rouge.

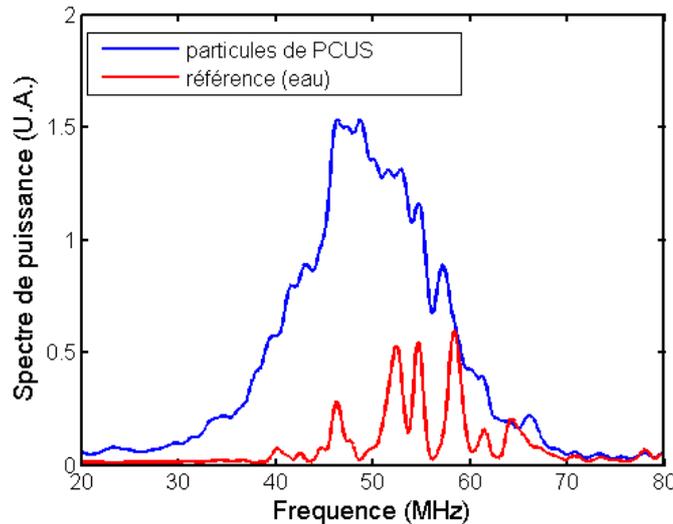


Figure 3.11. *PSD* moyennée sur 100 spectres du signal rétro diffusé par les ACU (bleu) et du signal de référence ou bruit¹² (rouge). U.A. : unités arbitraires.

¹² Dans l'eau, il y a pas d'éléments diffuseurs, les signaux reçus (réflexions du signal émis, bruit électronique du système d'acquisition) sont considérés ici comme du bruit.

3.2.1.2.b Calcul du SNR

On définit le paramètre $\overline{SNR_p}$ (ou simplement SNR) comme la valeur moyenne de la fonction $SNR_p(f_k)$ dans la bande passante à -3 dB du transducteur. La fonction $SNR_p(f_k)$ est donnée par le rapport entre les PSD moyennes calculées sur le signal de la solution $\langle PSD_s(f_k) \rangle$ et celle calculée sur le bruit (milieu de référence, solvant) $\langle PSD_b(f_k) \rangle$:

$$SNR_p(f_k) = 10 \log_{10} \left(\frac{\langle PSD_s(f_k) \rangle}{\langle PSD_b(f_k) \rangle} \right) \quad (3.7)$$

La bande passante est ici déterminée par une expérience de calibrage, qui consiste à acquérir le spectre de puissance du signal de l'écho réfléchi par une plaque métallique positionnée à la distance focale du transducteur.

Le rapport $SNR_p(f_k)$ est représenté sur la figure 3.12. Les fluctuations de la fonction $SNR_p(f_k)$ donnent l'écart-type σ_{SNR_p} . Si ces fluctuations proviennent du signal diffusé $PSD_s(f_k)$, il faut utiliser un nombre plus grand de signaux M pour effectuer le calcul $\langle PSD_s(f_k) \rangle$ et ainsi réduire l'écart type σ_{SNR_p} ¹³. Cependant, on verra dans une étude développée dans l'annexe 2 que ces fluctuations proviennent des fluctuations du bruit $PSD_b(f_k)$, lesquelles n'évoluent pas dans le temps et ne peuvent pas être éliminées par un simple moyennage.

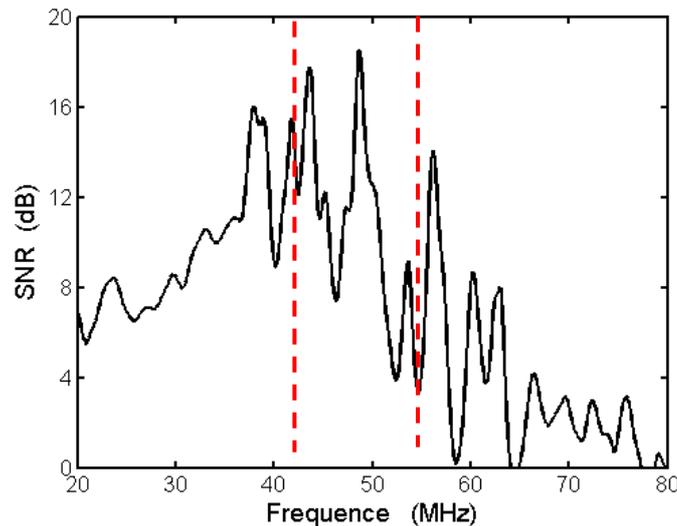


Figure 3.12. Paramètre de rehaussement de signal $SNR_p(f_k)$. Les lignes en rouge limitent la bande passante du transducteurs à -3 dB sur laquelle la valeur moyenne $\overline{SNR_p}$ est calculée.

¹³ Une moyenne statistique nécessite de faire des mesures simultanées et l'emploi de plusieurs transducteurs.

3.2.1.3 Effet de la concentration de particules - le $\overline{SNR_p}$ unitaire

L'étude du paramètre $\overline{SNR_p}$ en fonction de la concentration en poids par unité de volume (C) conduit à une estimation du rehaussement du contraste devant être observée sur les images échographiques pour un dosage spécifique des ACU . Cependant, lorsqu'il s'agit d'analyser des phénomènes tels que la diffusion multiple, l'atténuation ou l'agglomération de particules, l'échelle logarithmique considérée dans la définition du $\overline{SNR_p}$ ne facilite pas l'interprétation des résultats expérimentaux. C'est pour cela que l'on utilise également une échelle logarithmique sur l'axe de la concentration C . Ainsi, pour un régime de diffusion simple, sans pertes, pour lequel on observe une proportionnalité entre la puissance rétrodiffusée et la concentration, le graphique $SNR_p \leftrightarrow \log(C)$ présente, lui aussi, un comportement linéaire¹⁴. Pour une concentration déterminée de particules, une déviation de cette linéarité peut être interprétée comme un indice de la présence de l'un de ces phénomènes.

De plus, pour étudier les effets des propriétés physiques des ACU , il faut tenir compte du fait que, à la même concentration C , le nombre de particules contribuant au signal observé dépend de la masse des particules. Ainsi, les résultats de rehaussement de signal produits par des solutions d' ACU de différents tailles ou épaisseurs de la capsule de $PLGA$, ne peuvent pas être comparés directement. Pour surmonter ce problème, nous définissons le $\overline{SNR_p}$ unitaire (ou $\overline{SNR_p}$ par particule), dénommé $\overline{SNR_{pu}}$, considérant la puissance rétrodiffusée normalisée par le nombre de particules N :

$$\begin{aligned} SNR_{pu}(f_k) &= 10 \log_{10} \left(\frac{\langle PSD_s(f_k) \rangle}{\langle PSD_b(f_k) \rangle} \frac{1}{N} \right) \\ &= SNR_p(f_k) - 10 \log_{10}(N) \end{aligned} \quad (3.8)$$

La relation entre le nombre moyen de particules et la concentration en poids C , s'obtient simplement en considérant que la densité de particules est donnée par :

$$n = \frac{N}{V_{eff}} = \frac{C}{M_{ACU}} \quad (3.9)$$

Avec M_{ACU} la masse effective d'une particule d' ACU , définie comme :

$$\begin{aligned} M_{ACU} &= \rho_{PFOB} V_{PFOB} + \rho_{PLGA} V_{PLGA} \\ &= \frac{4}{3} \pi R^3 \left\{ \rho_{PLGA} + (\rho_{PFOB} - \rho_{PLGA}) \left(1 - \frac{T}{R}\right)^3 \right\} \end{aligned} \quad (3.10)$$

¹⁴ Dans le chapitre 4, nous montrerons que pour des particules peu diffusantes (faible concentration et/ou petite taille) le caractère additif du bruit introduit un biais dans ce comportement. En fait, on observe un

Ainsi, le nombre de particules est donné par :

$$N = \frac{3CV_{eff}}{4\pi R^3 \left\{ \rho_{PLGA} + (\rho_{PFOB} - \rho_{PLGA}) \left(1 - \frac{T}{R}\right)^3 \right\}} \quad (3.11)$$

3.3 Simulation numérique de la réponse acoustique des ACU

Le code ou programme de simulation SimSonic a été développé au Laboratoire d'Imagerie Paramétrique par Emmanuel Bossy [15]. Il est basé sur le schéma de Virieux [16, 17] et utilise un modèle efficace de couches absorbantes *PML* (Perfectly Matched Layer [18]).

Après un rappel des bases théoriques et une description du fonctionnement du programme, nous présentons la validité de notre approche en comparant les résultats obtenus par simulation bidimensionnelle avec la théorie de Faran [19].

Le code est ensuite utilisé pour décrire la diffusion acoustique par un ACU isolé et par une suspension d'ACU.

3.3.1 Base théorique du code : schéma de Virieux

Le schéma de Virieux repose sur la discrétisation par différences finies (spatiales et temporelles) d'un système élastodynamique d'équations locales dérivées de l'équation du mouvement de Newton (3.12) et la loi de Hooke (3.13), qui décrivent le comportement mécanique d'un milieu linéaire, élastique et anisotrope :

$$\frac{\partial v_i}{\partial t} = \frac{1}{\rho(\vec{r})} \frac{\partial T_{ij}}{\partial r_j} + \frac{1}{\rho(\vec{r})} f_i \quad (3.12)$$

$$\frac{\partial T_{ij}}{\partial t} = C_{ijkl}(\vec{r}) \frac{\partial v_k}{\partial r_l} + \frac{\partial \tau_{ij}}{\partial t} \quad (3.13)$$

Le milieu est caractérisé par la vitesse de déplacement $\vec{v} = \partial \vec{u} / \partial t$ (\vec{u} étant le vecteur déplacement), le tenseur des contraintes \vec{T} , et les propriétés locales du matériau : sa masse volumique ρ et son tenseur de rigidités \vec{C} . Les éventuels termes de sources de force ou de

comportement $\overline{SNR}_p \approx 10 \log\{1 + \beta C\}$, avec $\beta = \text{constante}$, qui converge vers 0 lorsque $C \rightarrow 0$ et qui est en accord avec le modèle proposé dans le chapitre 2.

[15] Emmanuel Bossy, "Evaluation ultrasonore de l'os cortical par transmission axiale : modélisation et expérimentation in vitro et in vivo", Thèse de Doctorat de l'Université Paris 6, soutenue le 10 juillet 2003.

[16] Virieux J., *Geophysics* Vol. 49, (11) pp. 1933-1957, 1984.

[17] Virieux J., *Geophysics* Vol. 51, (4), pp. 889-901, 1986.

[18] Collino F. and Tsogka C., *Geophysics*, Vol. 66 (1), pp. 294-307, 2001.

[19] Faran J. J., *J. Ac. Soc. Am.*, Vol. 23, n°4, pp. 405-418, 1951.

contraintes sont introduits par \vec{f} et $\vec{\tau}$ respectivement. Les équations utilisent la convention d'Einstein de sommation implicite des indices réduits.

L'écriture des équations (3.12) et (3.13) introduit une symétrie dans le rôle joué par les composantes de vitesse v_i et de contraintes T_{ij} . L'évolution temporelle d'ordre 1 d'une des variables (vitesse ou contrainte) est proportionnelle aux dérivées spatiales d'ordre 1 de la variable conjuguée (contrainte ou vitesse).

Le schéma de Virieux utilise un maillage spatio-temporel de pas régulier. En chaque nœud de maillage sont calculés itérativement les champs de vitesses et de contraintes. La discrétisation des équations (3.12) et (3.13) consiste à utiliser systématiquement les différences finies centrées, en espace et en temps, conduisant à des expressions du type :

$$\frac{\partial f(a_n)}{\partial a} \approx \frac{f(a_{n+1/2}) - f(a_{n-1/2})}{\Delta a} \quad (3.14)$$

Les deux champs du problème, v_i et T_{ij} sont discrétisées avec un pas spatial Δh et un pas temporel Δt , liés entre eux de façon à assurer la stabilité numérique du système :

$$\Delta t < \Delta t_{\min} = \frac{\Delta h}{\sqrt{n_d} V_{\max}} \quad (3.15)$$

V_{\max} étant la plus grande des vitesses longitudinales dans l'ensemble des matériaux (solides et liquides) qui forment le milieu simulé et n_d la dimension.

Dans le cas spécifique d'un maillage unidimensionnel, les équations (3.12) et (3.13) s'écrivent :

$$\frac{v_{k+1, i+\frac{1}{2}} - v_{k, i+\frac{1}{2}}}{\Delta t} = \frac{1}{\rho_{i+\frac{1}{2}}} \times \frac{T_{k+\frac{1}{2}, i+1} - T_{k+\frac{1}{2}, i}}{\Delta h} + \frac{1}{\rho_{k+\frac{1}{2}, i+\frac{1}{2}}} \times f_{k+\frac{1}{2}, i+\frac{1}{2}}$$

$$\Rightarrow \quad (3.16)$$

$$v_{k+1, i+\frac{1}{2}} = v_{k, i+\frac{1}{2}} + \frac{\Delta t}{\rho_{i+\frac{1}{2}}} \times \frac{T_{k+\frac{1}{2}, i+1} - T_{k+\frac{1}{2}, i}}{\Delta h} + \frac{\Delta t}{\rho_{k+\frac{1}{2}, i+\frac{1}{2}}} \times f_{k+\frac{1}{2}, i+\frac{1}{2}}$$

$$\frac{T_{k+\frac{1}{2}, i} - T_{k-\frac{1}{2}, i}}{\Delta t} = C_i \times \frac{v_{k, i+\frac{1}{2}} - v_{k, i-\frac{1}{2}}}{\Delta h} + \frac{\tau_{k+\frac{1}{2}, i} - \tau_{k-\frac{1}{2}, i}}{\Delta t}$$

$$\Rightarrow \quad (3.17)$$

$$T_{k+\frac{1}{2}, i} = T_{k-\frac{1}{2}, i} + \Delta t \times C_i \times \frac{v_{k, i+\frac{1}{2}} - v_{k, i-\frac{1}{2}}}{\Delta h} + \tau_{k+\frac{1}{2}, i} - \tau_{k-\frac{1}{2}, i}$$

où les indices k et i identifient respectivement les discrétisations temporelles et spatiales, en utilisant la notation suivant pour toute fonction ξ : $\xi(t_k, x_i) = \xi(k\Delta t, i\Delta h) = \xi_{k,i}$ (3.18)

Le milieu à étudier est défini par une cartographie des paramètres physiques (ρ et \vec{C}) qui incluent les hétérogénéités que représentent les obstacles. Cette cartographie est appelée domaine central, et sa résolution est définie par le pas spatial Δh ²⁰. La taille totale de la carte, exprimée en nombre de nœuds de grille, est limitée par la mémoire vive disponible et le temps de calcul. Une fois défini le pas spatial, le pas temporel est calculé en prenant la valeur minimale (3.15). Ainsi, le processus de simulation consiste en un calcul itératif des équations (3.16) et (3.17) pour chaque Δt consécutif.

3.3.2 Le logiciel SimSonic

3.3.2.1.a Fonctionnement du code

Le schéma de Virieux permet une implémentation immédiate des conditions aux limites (bords libres ou rigides), ainsi que des conditions de frontières (symétriques ou antisymétriques).

Pour simuler un milieu non borné, un système de couches absorbantes *PML* (Perfectly Matched Layers) a été implémenté. Ces couches sont ajoutées sur le pourtour du domaine central, et ont pour fonction d'absorber les ondes acoustiques. Les équations (3.12) et (3.13) y sont modifiées de façon à ce que les *PML* ne présentent aucune rupture d'impédance avec le domaine central, de façon à éviter toute réflexion des ondes en provenance de ce domaine. L'efficacité des *PML* dépend principalement de leur profondeur et de la fonction d'amortissement qui les caractérise. Dans la pratique, une profondeur d'une à deux longueurs d'onde est suffisante pour obtenir des coefficients de réflexion de l'ordre de - 40 à - 60 dB. Si cette restriction n'est pas significative à haute fréquence, elle devient très substantielle à basse fréquence.

La formulation proposée, en termes de vitesses et de contraintes, permet de simuler facilement des sources de pression. Un nœud de la grille définit une source ponctuelle. Dans le cas *2D*, plusieurs nœuds alignés (ou encore une matrice bidimensionnelle dans le cas *3D*) forment un transducteur. Le code permet ainsi de simuler des récepteurs acoustiques ponctuels ou en forme de barrettes réceptrices pouvant lire les fluctuations locales du champ de vitesses ou de contraintes produites par l'onde de pression.

Dans la pratique, la forme d'onde d'une source, de type porte modulant des sinusoides, est définie par un signal d'entrée, de fréquence et de durée déterminées. Le signal reçu par une barrette réceptrice est la moyenne des signaux reçus par chacun de ses nœuds.

²⁰ Choisi de façon à obtenir la finesse nécessaire pour décrire la morphologie du milieu à l'étude. Mais pour éviter les phénomènes de dispersion des ondes dus à des effets numériques, il est conseillé de choisir un pas spatial au moins 10 fois plus petit que la longueur d'onde ($\lambda = 30 \mu\text{m}$ à 50 MHz).

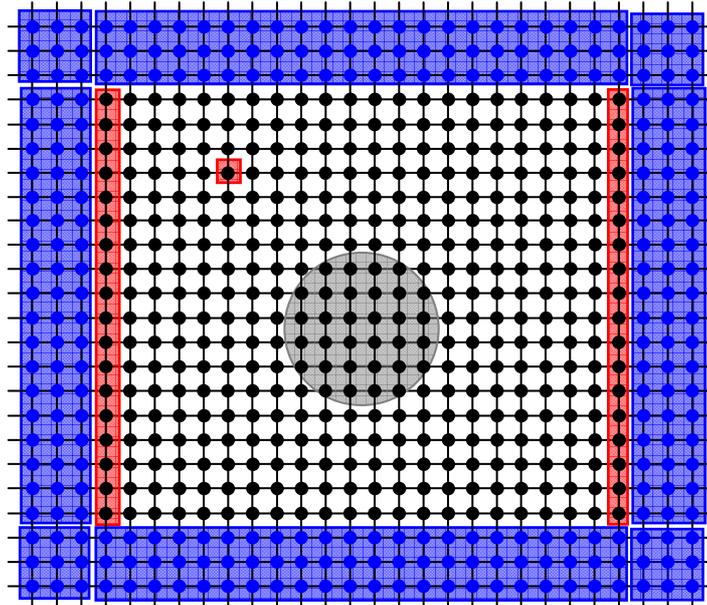


Figure 3.13. Représentation schématique du maillage utilisé par SimSonic : (●) nœuds du domaine central (équations 3.1), (●) nœuds des couches PML ajoutés au domaine central, (□) ensemble des nœuds qui conforment une barrette source ou réceptrice ponctuelle ou linéaire, (●) ensemble des nœuds qui définissent une hétérogénéité spécifique du milieu (obstacle/particule).

3.3.2.1.b Limitation du code

Le maillage cartésien utilisé rend impossible la représentation précise de toute interface courbe, ou inclinée par rapport au système de coordonnées. Ce type de maillage conduit donc à des effets de diffraction des ondes générées par les marches d'escalier apparaissant sur ces interfaces. Ils peuvent être réduits en augmentant la résolution spatiale de la carte.

Sa formulation actuelle ne permet pas de modéliser ni les phénomènes d'absorption, ni les phénomènes de caractère non linéaire. Ainsi, l'atténuation dans le milieu ne sera due qu'aux phénomènes de diffusion.

3.3.3 Description de la cartographie 2D

3.3.3.1.a Barrettes sources et barrettes récepteurs

La cartographie, utilisée pour l'étude des particules isolées pleines ou d'ACU, est présentée dans la figure 3.14. Un disque de rayon R est placé au centre d'un maillage carré de pas spatial Δh . Le milieu extérieur au disque aura toujours les propriétés de l'eau à 25 °C. La source de l'onde acoustique est simulée par une barrette linéaire de longueur L_c disposée sur un des côtés du maillage. Un signal de fréquence f_0 et de durée $T_0 = 4/f_0$ ($f_0 = 5$ ou 50 MHz), est appliqué à la barrette source. Le pas temporel est défini selon l'équation 3.15 et la durée totale de la simulation est donnée en fonction de la taille de la carte, par le temps de parcours

$t_{\max} = 2L_c/c_{\parallel,0}$, avec $c_{\parallel,0}$ la vitesse ultrasonore dans l'eau. Trois récepteurs ponctuels, placés à une distance d du centre du maillage, et aux angles π , $3\pi/4$ et $\pi/2$ avec la direction de propagation de l'onde incidente \vec{k}_0 , reçoivent les signaux diffusés. Pour éviter les réflexions des couches *PML* sont placées sur les 4 cotés et les 4 coins du domaine.

La méthode utilisée pour simuler une suspension de particules d'ACU est indiquée sur la figure 3.15. N' disques identiques sont placés aléatoirement sur les mailles en évitant qu'ils se superposent ou qu'ils touchent les bords du domaine central. Pour chaque quantité de disques les calculs de simulation sont répétés sur un nombre N_d de cartes de manière à ce que la réponse acoustique ne caractérise pas une configuration particulière mais produise un résultat moyen sur plusieurs configurations équivalentes. La barrette réceptrice 1, superposée à la barrette source et est utilisée pour recevoir le signal incident et le signal rétrodiffusé. Une deuxième barrette réceptrice 2, placée parallèlement à la barrette 1, sur le côté opposé de la carte, est utilisée pour recevoir le signal transmis. Une couche *PML* est ajoutée sur le côté extérieur de la barrette réceptrice 2 et des conditions symétriques sont utilisées sur les 3 autres côtés.

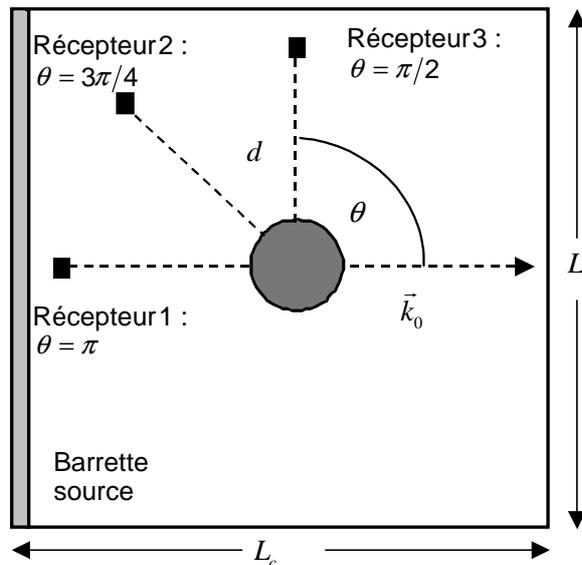


Figure 3.14. Configuration de la carte pour le cas d'une particule isolée. Un disque de matériel solide ou liquide est placé au centre de la carte \vec{k}_0 est la direction de propagation de l'onde incidente. Le rectangle allongé gris, placé sur la gauche représente la barrette source. Les carrés noirs indiquent les 3 barrettes réceptrices ponctuelles.

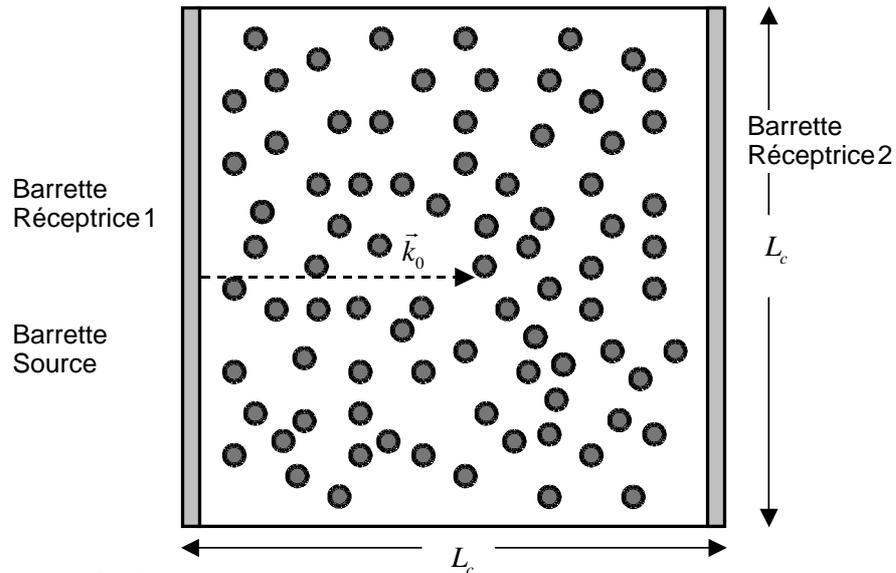


Figure 3.15. Configuration de la carte pour une distribution de particules. Direction de propagation de l'onde incidente \vec{k}_0 . Le rectangle gris, placé à gauche identifie la barrette source et la barrette réceptrice 1. Le rectangle gris, placé à droite identifie la barrette réceptrice 2.

3.3.3.1.b Modélisation des ACU

Une particule d'ACU de rayon externe R est modélisée par un disque possédant les propriétés du PFOB à 25°C. Ce disque est entouré par une couche de PLGA, d'épaisseur T , considéré comme un solide élastique idéal et caractérisé par sa masse volumique et les coefficients de son tenseur de rigidité.

La figure 3.17 montre les résultats obtenus pour une distribution de 250 disques de rayon R sur une carte de $L_c = 1$ mm, $R = 3$ μm , et $T/R = 0,35$ ($T = 1,05$ μm).

La taille de la particule simulée définit le pas spatial (ici $\Delta h = 0,3$ μm). Avec 20 x 20 points de grille nécessaires pour définir une particule on observe une forme irrégulière du disque. Il est possible d'augmenter la résolution du maillage de sorte à avoir une description plus précise. Cependant, la mémoire vive disponible et le temps de calcul limitent la taille totale de la carte. Dans le cas discuté ici la carte est formée par 3333 x 3333 points de grille et le temps du calcul est d'environ 12 heures.

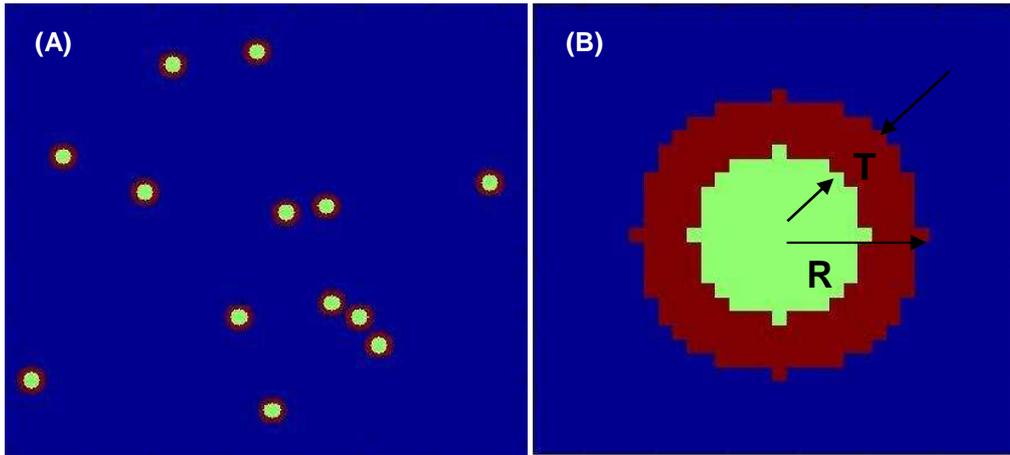


Figure 3.16. (A) Agrandissement d'une zone de la carte. (B) Agrandissement d'un des disques. Taille des disques $R = 3\mu\text{m}$, $T/R = 0.35$ et $\Delta h = 0,3\mu\text{m}$.

3.3.4 Propriétés physiques des ACU

Le milieu de propagation de l'onde est décrit par une matrice $M_{i,j}$ de valeurs entières q identifiant, pour chaque nœud de la matrice (i, j) le type de matériau présent en cette position. La valeur $q=0$ représente le milieu extérieur à la particule (eau), et les valeurs $q=1$ et $q=2$ représentent respectivement le cœur liquide (PFOB) et la couche solide (PLGA) du disque. Ces trois valeurs permettent d'introduire les propriétés physiques $\rho_{i,j}$ et $\vec{C}_{i,j}$. Les coefficients du tenseur de rigidités $\vec{C}_{i,j}$ sont définis en fonction des coefficients de Lamé λ_q et μ_q :

$$\vec{C}_{i,j} = \begin{bmatrix} \lambda_q + 2\mu_q & \lambda_q & 0 \\ \lambda_q & \lambda_q + 2\mu_q & 0 \\ 0 & 0 & \mu_q \end{bmatrix} \quad (3.19)$$

$$\lambda_q + 2\mu_q = c_{\parallel,q}^2 \rho_q \quad (3.20)$$

$$\mu_q = c_{\perp,q}^2 \rho_q = \frac{c_{\parallel,q}^2 (1 - 2\sigma_q)}{2(1 - \sigma_q)} \rho_q \quad (3.21)$$

Les coefficients de Lamé λ_q et μ_q sont donc connus si les masses volumiques ρ_q (avec $\rho_q \equiv \rho_{i,j}$), les vitesses longitudinale $c_{\parallel,q}$ et transversale $c_{\perp,q}$, ainsi que le coefficient Poisson σ_q sont connus (tableau 3.2).

Dans les simulations, les milieux liquides sont définis comme des solides pour lesquels le coefficient de Lamé μ_q est nul.

Milieu de propagation	q	ρ_q (g/ml)	$c_{\parallel,q}$ (m/s)	$c_{\perp,q}$ (m/s)
Eau	0	1,0	1500	0 (*)
PFOB	1	2,0	612,4	0 (*)
PLGA	2	1,35	2000	280 (si $\sigma_q = 0,49$)

Tableau 3.2. Propriétés physiques utilisées dans les simulations de particules de ACU. (*). Remarque : Les valeurs introduites dans le fichier de paramètre sont égales à 0, mais, pour des raisons numériques, le logiciel les interprète comme des valeurs proches de 0. Les propriétés de l'eau comme du PFOB sont connues avec une bonne précision (valeurs à 25° C) [6] par contre celles du PLGA sont mal définies. Les valeurs indiquées sont donc estimatives. Cependant une étude de l'effet de la variation de ces paramètres sera présentée dans le chapitre présentant les résultats.

3.4 Traitement des données

Le traitement des "signaux enregistrés" par les barrettes dépend du type de carte utilisée. S'il s'agit de l'étude d'un disque isolé, il suffit d'analyser le spectre de puissance du signal diffusé. Par contre, s'il s'agit d'une distribution de disques, il est important d'analyser le signal transmis afin de calculer la vitesse de propagation et le coefficient d'atténuation.

3.4.1 Processus de validation : disques isolés homogènes

Afin de comparer les résultats obtenus en simulation (avec SimSonic) au modèle analytique de Faran nous avons calculé le spectre de puissance des signaux diffusés par des particules homogènes pour trois valeurs d'angles : $\theta = \pi$, $3\pi/4$ et $\pi/2$. En principe, le signal diffusé à chacun de ces trois angles peut être extrait du signal enregistré par la barrette réceptrice ponctuelle correspondante (figure 3.15), en utilisant un filtre temporel rectangulaire. Cependant, dans certains cas, le signal diffusé est tellement proche du signal incident qu'il n'est pas possible de recouper le signal sans avoir de discontinuités aux extrémités de la fenêtre. Pour éviter ces discontinuités, nous avons préféré d'utiliser un filtre temporel de Tukey avec un facteur de Hann $h < 0,5$.

Le filtre est appliqué à partir du temps d'arrivée du signal diffusé $T_{ci} = (L_c/2 + d)/c_{\parallel,0}$ (temps de coupure inférieur) et sa longueur est choisi de façon à exclure les possibles réflexions résiduelles sur la paroi pourvue d'une couche absorbante (PML) opposée à la barrette source, le temps de coupure supérieur sera choisi égal ou inférieur à $T_{cs} = (3L_c/2 + d)/c_{\parallel,0}$ (longueur fenêtre : $\Delta T_{diff} = T_{cs} - T_{ci} = L_c/c_{\parallel,0}$). D'autre part, le signal incident $P_0(t)$, est extrait du signal reçu par la barrette réceptrice ponctuelle 1, en utilisant un filtre de même type et de même longueur pour ainsi éviter le biais attribué au fenêtrage.

Les spectres de puissance du signal incident $|P_0(f)|^2$ et des signaux diffusés $|P_{diff}(f)|^2$ sont calculés en utilisant l'algorithme de la Transformée Rapide de Fourier, et leur rapport est comparé avec celui prédit par le modèle de Faran.

3.4.2 Disque d'ACU isolé

Ici, le traitement des signaux est parfaitement identique à celui qui a été utilisé dans le cas précédent, néanmoins, seul le signal rétrodiffusé ($\theta = \pi$) est analysé.

La puissance totale rétrodiffusée à $\theta = \pi$ est obtenue par l'intégration du spectre de puissance du signal (équation 3.14) dans la bande passante de - 3 dB autour de la fréquence centrale du signal incident.

$$\hat{P}_{diff,\theta=\pi} = \frac{1}{W_{ss}(f_2 - f_1)} \int_{f_1}^{f_2} |P_{diff}(f)_{\theta=\pi}|^2 df \quad (3.22)$$

W_{ss} est un facteur de normalisation qui dépend du type de fenêtre (équation 3.5).

La puissance relative diffusée $PRD(\theta = \pi)$ est exprimée en dB :

$$PRD(\theta = \pi) = 10 \log_{10} \frac{\hat{P}_{diff,\theta=\pi}}{\hat{P}_0} \quad (3.23)$$

3.4.3 Distribution aléatoire d'ACU

3.4.3.1.a Signal rétrodiffusé

Pour un nombre de particules N' , on simule N_d distributions aléatoires. Le signal rétrodiffusé est extrait du signal reçu par la barrette réceptrice 1 (figure 3.16) par un filtre temporel de type Hann. Pour prendre en compte tous les disques distribués dans la carte, l'origine de la fenêtre coïncide avec la fin du signal incident, $T_{ci} = T_0$, et le temps de coupure supérieur est égal à 2 fois le temps de parcours du signal incident dans l'eau $T_{cs} = 2L_c/c_{||,0}$ [21]. La durée du filtre temporel est donc :

$$\Delta T_{diff} \leq 2L_c/c_{||,0} - T_0 \quad (3.24)$$

La PRD est alors calculée pour chaque distribution, et une valeur moyenne est prise sur les N_d distributions.

[21] Il serait plus correct d'utiliser la vitesse dans la solution, mais, dans ce cas la longueur de la fenêtre va varier si on change la concentration de particules.

3.4.3.1.b Calcul de la vitesse de propagation

La vitesse effective de propagation de l'onde est déterminée par la méthode de l'inter-corrélation [22] réalisée entre le signal émis qui est enregistré par la barrette réceptrice **1** et celui enregistré par la barrette réceptrice **2** située à l'extrême opposée du domaine central. La position sur l'axe temporel du maximum de la fonction d'inter-corrélation entre le signal incident et le signal transmis ($C_{inc,trans}(t)$), correspond au temps de parcours de l'impulsion (ΔT_p). Pour améliorer la précision de la mesure, l'enveloppe E_C de l'inter-corrélation est calculée en utilisant la Transformée de Hilbert (TH) du même signal de la manière suivante [23]:

$$E_C(t) = \sqrt{C_{inc,trans}^2(t) + TH^2(C_{inc,trans}(t))} \quad (3.25)$$

Avec

$$C_{inc,trans}(t) = \int_{-\infty}^{\infty} P_{trans}(t+\tau) P_{inc}(t) d\tau \quad (3.26)$$

Une fois calculé le temps de parcours du signal incident, la vitesse est déduite en considérant la longueur L_c de la carte :

$$c_{eff} = \frac{L_c}{\Delta T_p} \quad (3.27)$$

Une valeur moyenne de c_{eff} est alors prise sur les N_d distributions.

3.4.3.1.c Calcul de l'atténuation

Le signal transmis $P_{trans}(t)$ est également utile pour calculer l'atténuation due aux phénomènes de diffusion de l'onde incidente. La méthode utilisée ici est la méthode de substitution (équation (3.28)) [24]. La perte d'énergie est définie par rapport à un signal de référence $P_{trans,ref}(t)$ qui est le signal transmis dans une carte sans disques. Le même filtre temporel que celui utilisé pour extraire les signaux rétrodiffusés est appliqué dès que $T_{ci} = \Delta T_p$ (temps parcours de l'onde) et sa longueur est choisie égale à la durée du signal incident T_0 . Le rapport entre les puissances des signaux de la solution et de la référence (carte sans disques) est calculé en prenant en compte la longueur de la carte L_c :

[22] Knapp C. H. et Carter G. C., "The generalized correlation method for estimation of delay time", *IEEE Transactions on Acoustics, Speech, and Signal Processing*, Vol. 24, pp. 320-327, 1976.

[23] Lawrence H. Le, "An investigation of pulse-timing techniques for broadband ultrasonic velocity determination in cancellous bone: a simulation study", *Phys. Med. Biol.*, Vol. 43, pp. 2295-2308, 1998.

[24] Duck F. A., Baker A. C., and Starritt H. C., "Ultrasound in medicine, Medical Science Series", *Institute of Physics Publishing Bristol and Philadelphia*, Chap. 16, 1998.

$$\alpha_d(f) = -\frac{10}{L_c} \log_{10} \left(\frac{|P_{Trans}(f)|^2}{|P_{Trans,ref}(f)|^2} \right) \quad (3.28)$$

La valeur finale de l'atténuation est ensuite moyennée sur les N_d distributions (dB.m^{-1}).

La figure 3.18 montre le traitement des signaux pour une simulation à 50 MHz d'une distribution de $N' = 250$ disques d'ACU de $R = 3 \mu\text{m}$ et $T/R = 0,35$.

En principe, la comparaison entre le paramètre de rehaussement SNR_p obtenu expérimentalement et la puissance totale rétrodiffusée (équation (3.23)) déduit des simulations, pourrait être faite directement si on considère que la simulation utilise simplement une autre référence introduisant uniquement un changement d'échelle. Ceci pourrait être corrigé alors par la définition d'une fonction $PRD(N')$ (ou $SNR_p(C)$) de façon à avoir convergence entre les cas numériques et expérimentaux lorsque le nombre de particules ou la concentration tend vers zéro : $N' \rightarrow 0$. Cependant, la présence du bruit dans les mesures expérimentales introduit un biais dans le comportement du $SNR_p(C)$ lorsque $C \rightarrow 0$, qui ne permet pas faire cette comparaison¹².

La vitesse de propagation et l'atténuation peuvent nous donner une information additionnelle sur les effets des ACU sur la propagation de l'onde acoustique. En particulier, les résultats de la vitesse seront comparés avec une version adaptée de la théorie du milieu effectif.

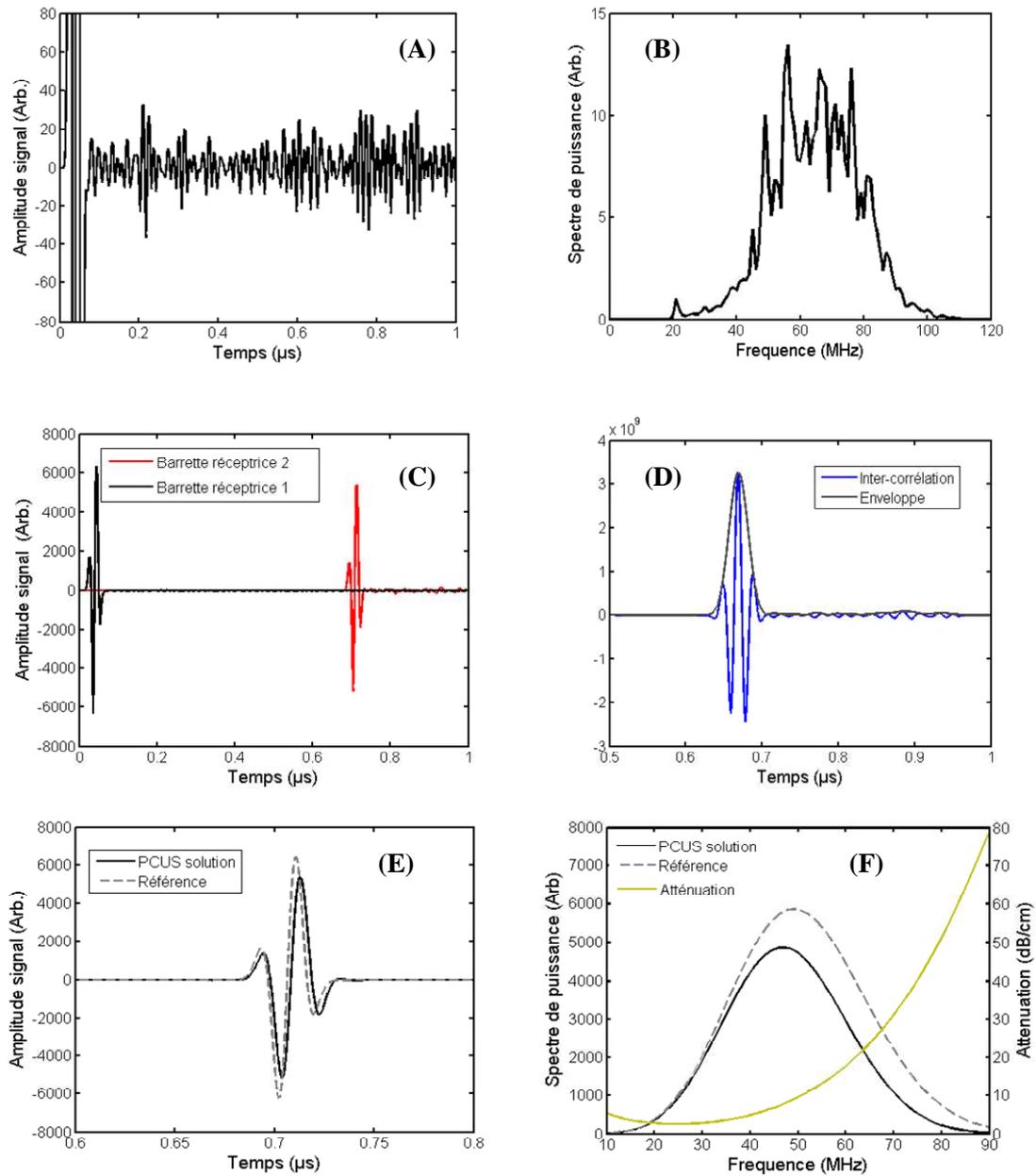


Figure 3.17. Simulation à 50 MHz d'une distribution de $N' = 250$ disques de PCUS de $R = 3 \mu\text{m}$ et $T/R = 0,35$.
 (A) : signal retro-diffusée.
 (B) : spectre de puissance moyenné sur 10 simulations.
 (C) : signaux reçus par les barrettes 1 et 2 (selon la configuration).
 (D) : calcul du temps de vol.
 (E) : signal transmis avec et sans particules.
 (F) : calcul de l'atténuation

3.4.3.2 Nombre équivalent de particules à 2D

Afin de comparer les résultats des simulations réalisées sur une distribution d'ACU à 2D avec les résultats expérimentaux (à 3D), le nombre de disques distribués dans le domaine central doit être en accord avec les concentrations utilisées dans les expériences de rétrodiffusion. Nous supposons que les deux concentrations sont équivalentes si les distances moyennes de

centre à centre le sont. La distance moyenne de centre à centre (ou libre parcours moyen) à 3D est :

$$d_{m3d} = \frac{1}{n^{1/3}} \quad (3.29)$$

où n est concentration en nombre de particules par unité de volume (ou densité de particules).

Lorsque C est exprimé en masse totale de particules par ml , n peut être écrit en fonction de C en utilisant les équations 3.9 et 3.10.

En 2D, la distance moyenne d_{m2d} de centre à centre pour N' disques distribués sur une carte de surface L_c^2 est :

$$d_{m2d}^2 \approx \frac{L_c^2}{N'} = \frac{1}{n'} \quad (3.30)$$

avec n' est la concentration en nombre de disques par unité de surface (ou densité de disques).

En 2D, le nombre équivalent de particules N' est obtenu en considérant que

$$d_{m2d} \equiv d_{m3d} \Rightarrow N' = L_c^2 \left(\frac{C}{M_{ACU}} \right)^{2/3} \quad (3.31)$$

le nombre maximum de disques est limité par la taille de la carte. Si N'_{\max} est le nombre de disques qui couvre presque totalement la surface de la carte :

$$N'_{\max} = \left(\frac{L_c}{2R} \right)^2 \quad (3.32)$$

À titre d'exemple, pour des disques de $R = 3 \mu m$ dans une carte de 1 mm^2 , N'_{\max} vaut 27 778 particules, correspondant à une densité réelle de 667 mg/ml.

La figure 3.17 montre les variations de n et de d_{m3d} (équations 3.9 et 3.30) en fonction de la concentration en poids de particules de rayon $R = 75 \text{ nm}$ (gauche) et $3 \mu m$ (droite) et avec $T/R = 0,35$. La gamme de concentration est équivalente à celle utilisée dans les mesures in vitro. On observe que le libre parcours moyen décroît rapidement pour de faibles concentrations de particules, avec une valeur de 0,7 et $30 \mu m$ (de l'ordre de la longueur d'onde à 50 MHz) pour une concentration de $C = 5 \text{ mg/ml}$ approximativement. Cette décroissance devient plus lente pour de fortes concentrations pour atteindre une valeur de 0,4 et $15 \mu m$ à une concentration de 50 mg/ml.

La figure 3.18 représente le nombre de disques équivalent par unité de surface (équation 3.32), dans une carte de $1 \times 1 \text{ mm}^2$, en fonction de la concentration en poids d'ACU, pour différentes valeurs de masse volumique du PLGA. La figure 3.18 permet d'identifier les valeurs de N' qui

doivent être utilisées à fin de simuler la réponse acoustique équivalente de suspensions de particules d'ACU de concentration spécifique.

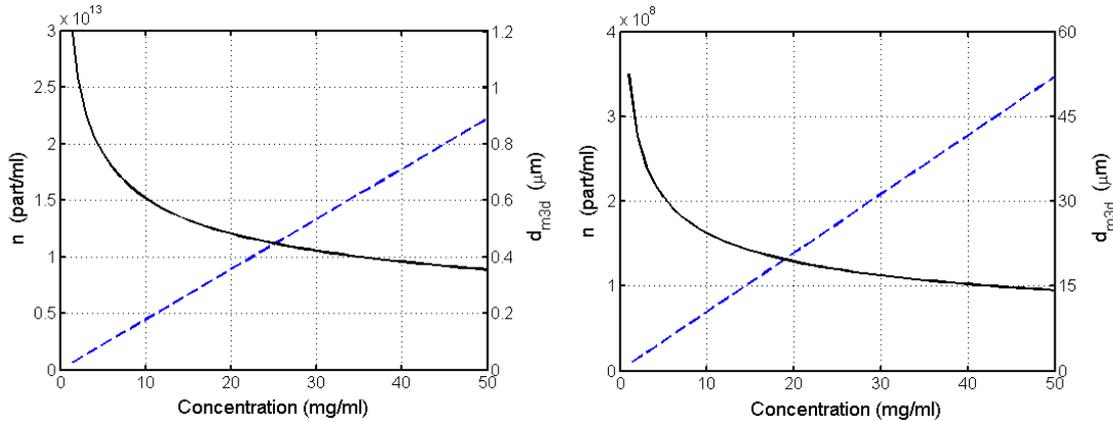


Figure 3.17. Distance centre à centre (d_{m3d} , ligne noire) et concentration en nombre (n , ligne bleu) de particules en fonction de la concentration en poids d'ACU. ($\rho_{PFOB} = 2 \text{ g/ml}$ et $\rho_{PLGA} = 1 \text{ g/ml}$). Le rayon moyen des particules $R = 75 \text{ nm}$ (gauche) et $3 \mu\text{m}$ (droit). Le paramètre d'épaisseur $T/R = 0,35$

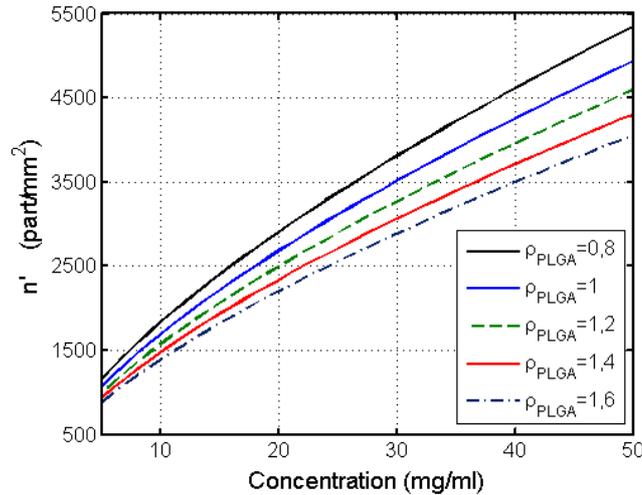


Figure 3.18. Variation de la concentration en nombre équivalent (N' ou n') des particules pour une carte de $1 \times 1 \text{ mm}^2$ en fonction de la concentration en poids d'ACU pour différentes valeurs la masse volumique du PLGA.

3.4.3.3 Adaptation du modèle des milieux effectifs pour disques d'ACU

Afin de pouvoir étudier les variations de la vitesse effective en fonction de la concentration en nombre équivalente de disques (N' ou n'), nous utiliserons une version adaptée au cas 2D du modèle du milieu effectif [25, 26, 27]. Ce modèle suppose que les effets de diffusion ne produisent

[25] Urick R. J., "A sound velocity method for determining the compressibility of finely divided substances", *Journal of Applied Physics*, Vol. 18, pp. 983-987, 1947.

[26] Harker A. H., and Temple J. A. G., "Velocity and attenuation of ultrasound in suspensions of particles in fluids", *Journal of Applied Physics*, Vol. 21, pp. 1576-1588, 1988.

[27] McClements D. J., and Povey M. J. M., "Scattering of ultrasound by emulsions", *Journal of Applied Physics*, Vol. 22, pp. 38-47, 1989.

qu'une faible dispersion de la vitesse ultrasonore, en pouvant ainsi considérer la suspension comme un mélange homogène idéal avec une vitesse effective donnée par :

$$c_{eff} = \sqrt{\frac{1}{\kappa_{eff} \rho_{eff}}} \quad (3.33)$$

$$= \sqrt{\frac{1}{\left[(1-\phi^s) \kappa_0 + \phi^s \kappa_{ACU} \right] \left[(1-\phi^s) \rho_0 + \phi^s \rho_{ACU} \right]}}$$

Avec ϕ^s la fraction superficielle de disques d'ACU

$$\phi^s = n' \pi R^2 \quad (3.34)$$

Similairement, la compressibilité κ_{ACU} et les masses volumiques effectives ρ_{ACU} d'un disque d'ACU peuvent être calculées par :

$$\rho_{ACU} = (1-\phi_{PFOB}^s) \rho_{PLGA} + \phi_{PFOB}^s \rho_{PFOB} \quad (3.35)$$

$$\kappa_{ACU} = (1-\phi_{PFOB}^s) \kappa_{PLGA} + \phi_{PFOB}^s \kappa_{PFOB}$$

Avec ϕ_{PFOB}^s égale à la fraction superficielle de PFOB dans le disque d'ACU

$$\phi_{PFOB}^s = (1-T/R)^2 \quad (3.36)$$

Dans la situation réelle, le modèle du milieu effectif est valide pour suspensions diluées (fraction volumétrique < 10 %) et dans l'approximation $k_0 R \ll 0,1$. Aussi, il est possible d'écrire l'atténuation effective (due seulement à l'absorption) en termes de l'atténuation de leurs composants.

3.5 Optimisation des signaux et caractéristiques du bruit

Les différents paramètres nécessaires à l'optimisation des signaux sont présentés dans l'annexe 2. Les paramètres importants qu'il est nécessaire de prendre en compte sont :

- La réponse en fréquence du transducteur
- Les paramètres nécessaires au calcul de la densité spectrale de puissance : nombre de spectres et taille de la fenêtre temporelle utilisée pour extraire les signaux
- La sédimentation des particules d'ACU, phénomène lié à la masse, en produisant une diminution de la concentration locale de particules. Cet effet produit une réduction du rehaussement du signal lorsque le temps d'acquisition augmente. Il faut donc, trouver un compromis.

L'annexe 2 montre également, les limitations de l'hypothèse d'un bruit blanc additif. Nous présentons sommairement les caractéristiques du bruit dans notre application.

3.6 Conclusion

Nous avons présenté ici une méthode expérimentale de détermination du rehaussement de contraste produit par solutions aqueuses d'ACU, produisant un rapport \overline{SNR}_p (section 3.2.1.c), qui sera utilisée dans le chapitre 4 présentant les résultats expérimentaux. L'évaluation des paramètres de traitement de signal, nous a permis de définir des valeurs optimales pour la taille du fenêtrage et le nombre des spectres ($\Delta = 1,333 \mu s$ et $M = 100$, annexe 2). Par ailleurs, l'étude des propriétés du bruit montre que, bien qu'il présente les caractéristiques d'un bruit additif, il ne peut pas être considéré comme un bruit blanc. En effet, on observe la présence de pics qui ne sont pas éliminés par le moyennage des spectres, limitant ainsi la précision du paramètre \overline{SNR}_p . Le calcul du niveau de bruit des références utilisées au long d'une année, montre effectivement une variation de près de 50 %. Leur effet sur la reproductibilité des mesures de rehaussement de contraste sera analysé dans le chapitre suivant.

L'application de cette méthode nous permettra d'étudier le rehaussement de contraste en fonction de la concentration des particules d'ACU. Néanmoins, l'évaluation des propriétés structurales devra être faite en utilisant le \overline{SNR}_p unitaire (section 3.2.1.d).

Les méthodes présentées dans la section 3.2.2, seront utilisées dans l'étude *in silico* (chapitre 5). D'abord, nous étudierons la réponse acoustique de particules d'ACU isolées, en accordant un intérêt spécial à l'effet des propriétés structurales (rayon externe R et paramètre d'épaisseur de la capsule de $PLGA T/R$). Le choix des propriétés physiques du polymère $PLGA$ (table 3.2) sera discuté et une étude de la PRD en fonction de leur variation sera également présentée. Dans une deuxième partie, nous étudierons la réponse acoustique d'une distribution aléatoire d'ACU, où nous analyserons aussi la vitesse effective de propagation et l'atténuation par diffusion. Les deux études seront faites dans un domaine bidimensionnel.

Chapitre 4 : Résultats in vitro

4.1. Introduction

Nous présentons ici l'étude expérimentale de la réponse acoustique d'une solution d'ACU à cœur de PFOB liquide avec une coque de polymère PLGA. Dans une première partie, nous présenterons l'étude expérimentale de la rétrodiffusion acoustique d'une solution de particules homogènes de polystyrène et de PLGA afin d'évaluer la méthode d'estimation de rehaussement de signal (équation 2.65), et pour constituer un cadre de situations extrêmes aux particules d'intérêt. Finalement, le rehaussement du signal rétrodiffusé par solutions d'ACU sera étudié en fonction de la concentration de particules et de leurs paramètres physiques et structurels.

4.2. Particules homogènes. Comparaison avec le modèle de Faran

4.1.1 Particules de polystyrène de rayon $R = 0,5 \mu\text{m}$

Il s'agit de particules de masse volumique $\rho_{diff} = 1,055 \text{ g/ml}$, et de vitesses longitudinale et transversale $c_{\parallel} = 2380 \text{ m/s}$ et $c_{\perp} = 1180 \text{ m/s}$ respectivement [1].

[1] Hall C. S. et al., "Broadband measurements of the attenuation coefficient and backscatter coefficient for suspensions: A potential calibration tool", J. Acoust. Soc. Am., Vol. 101, n°2, pp. 1162-1171, 1997.

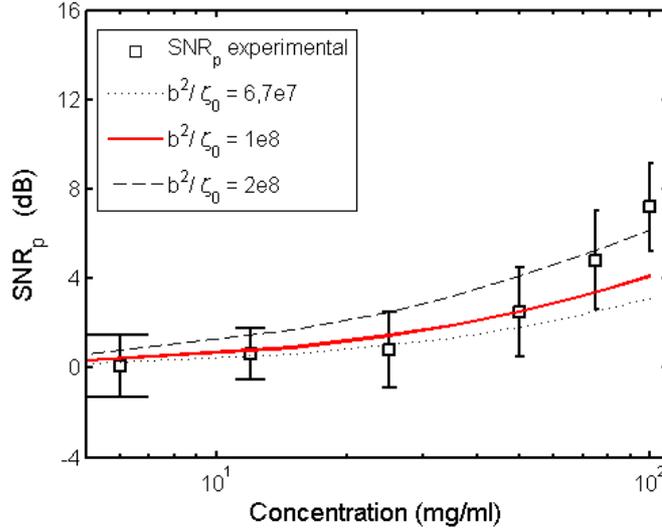


Figure 4. 1 Variation de $\overline{SNR_p}$ en fonction de la concentration C des particules de polystyrène de $R=0,5 \mu\text{m}$. Les ajustements sont effectués à partir de la théorie de Faran pour différentes valeurs de b^2/ζ_0 (équation 2.65 du chapitre 2) (correspondant à une variation autour de 50 % de ζ_0). Où b est la largeur du volume effectif et ζ_0 le niveau du bruit.

La figure 4.1 représente la variation du rehaussement de contraste $\overline{SNR_p}$, en fonction de la concentration, calculée comme la moyenne dans la bande passante du transducteur (à - 3 dB) de :

$$SNR_p(f) = 10 \log \left(\frac{\langle PSD_s(f) \rangle}{\langle PSD_b(f) \rangle} \right) \quad (\text{chapitre 3, équation 3.7}).$$

Sa valeur, presque négligeable pour les concentrations inférieures à 30 mg/ml (soit 5×10^{10} particules/ml), croît progressivement pour atteindre 7 dB pour $C = 100$ mg/ml.

La convergence $\overline{SNR_p} \rightarrow 0$ (i.e. $\langle PSD_s(f) \rangle / \langle PSD_b(f) \rangle \rightarrow 1$) lorsque la concentration devient négligeable, est en cohérence avec le caractère additif du bruit.

Les traits pleins représentent les variations du $\overline{SNR_p}$ estimées théoriquement lorsque l'on considère le signal de référence comme un bruit blanc additif:

$$SNR_p(f) = 10 \log \left\{ 1 + \frac{8\pi b^2 L}{\zeta_0 Z_F^2 R_p^2} \Gamma_s(f) \eta_{rd}(f) \right\} \quad (\text{chapitre 2, équation 2.65})$$

où $\eta_{rd}(f) = n\sigma_{rd}(f, R)$ est le coefficient de rétrodiffusion pour une distribution monodisperse de n particules diffusantes par unité de volume (équation 2.39).

La section efficace différentielle de rétrodiffusion (équation 2.36) est calculée en utilisant l'expression aux grandes distances de la théorie de Faran ($k_0 r \gg 1$) :

$$\begin{aligned} \sigma_{rd}(f, R) &= \frac{1}{I_0} \frac{d\Pi_{rd}}{d\Omega} = \frac{|p_s(f)|_{\theta=\pi}|^2 r^2}{P_0^2} && \text{(chapitre 2, équation 2.27)} \\ &= \frac{1}{k_0^2} \left| \sum_{m=0}^{\infty} (2m+1) \sin \eta_m e^{-i\eta_m} P_m(-1) \right|^2 \end{aligned}$$

L'utilisation de cette expression est justifiée par le fait que le volume effectif des particules $V_{eff} = \pi b^2 L$ ($L = 1 \text{ mm}$ et $b = 0,025 \text{ mm}$) est situé au foyer de la sonde $r \approx Z_F = 12,25 \text{ mm}$ ($k_0 Z_F \approx 10^3$).

Dans le calcul de la somme, seuls les vingt premiers modes normaux sont pris en compte ($m = 0, 1, \dots, 20$). En effet, des essais réalisés avec un nombre plus important de modes normaux n'ont pas présenté de variations significatives.

Les expériences sont réalisées à température ambiante, les propriétés physiques de l'eau sont prises égales à $\rho_0 = 1 \text{ g/ml}$ et $c_0 = 1500 \text{ m/s}$ à cette température.

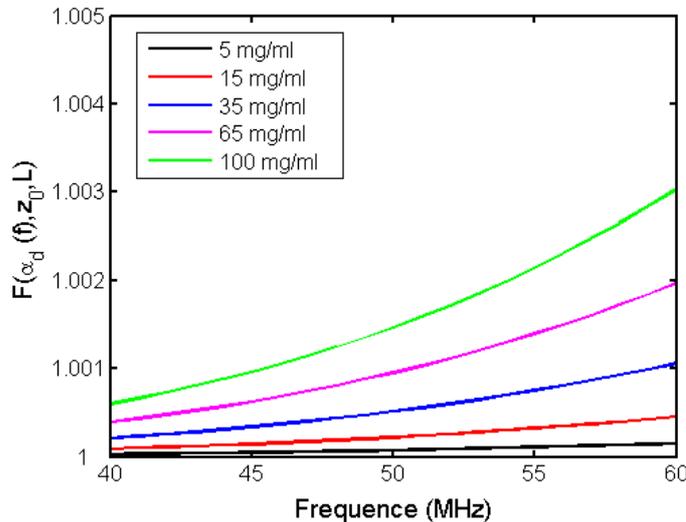


Figure 4.2 Facteur de compensation des pertes dues à l'atténuation. Seule l'atténuation par diffusion est prise en compte.

Il est utile de préciser que la fonction $\Gamma_s(f) = \frac{PSD_p(f)}{F(\alpha(f), z_0, L)}$ compense les effets électromécaniques de la sonde par le terme $PSD_p(f)$ et les pertes par atténuation grâce au terme :

$$F(\alpha(f), z_0, L) = e^{4\alpha(f)z_0} \left(\frac{4\alpha(f)L}{e^{2\alpha(f)L} - e^{-2\alpha(f)L}} \right) \quad (\text{chapitre 2, équation 2.62})$$

Ici, le facteur $PSD_p(f)$, correspond au spectre de puissance du signal de l'écho réfléchi par une plaque métallique (coefficient de réflexion $R_p \approx 1$) placée à la distance focale de la sonde (chapitre 3, paragraphe relatif au calcul du *SNR* et annexe 2).

Pour calculer $F(\alpha(f), z_0, L)$ il est nécessaire de connaître $\alpha(f)$. Malheureusement le système expérimental (en mode pulse-écho) ne permet pas de mesurer directement l'atténuation. Aussi nous utiliserons la théorie de Faran pour l'estimer. Dans ce cas, seuls les processus de diffusion sont pris en compte, i.e. $\alpha \approx \alpha_d$ (paragraphe 2.4.2). Ainsi, les pertes par absorption ne sont pas compensées :

$$\alpha_d = \frac{2\pi n}{k_0^2} \sum_{m=0}^{\infty} (2m+1)(\sin \eta_m)^2 \quad (\text{en Np.m}^{-1}, \text{ chapitre 2, équation 2.50})$$

La figure 4.2 montre la variation de $F(\alpha_d(f), L/2, L)^2$ avec la fréquence pour différentes valeurs de C . On constate qu'autour de 50 MHz, la valeur de $F(\alpha_d(f), L/2, L)$, est inférieure à 1,002 pour toutes les concentrations, ce qui équivaut à dire que l'atténuation par diffusion est négligeable, observation qui est en accord avec le faible rehaussement de contraste observé sur la figure 4.1.

La valeur du rapport b^2/ζ_0 , où b est la largeur du volume effectif et ζ_0 le niveau du bruit, n'est pas connue. Elle est estimée à 10^8 mm^2 en ajustant des valeurs expérimentales du $\overline{SNR_p}$. On constate (lignes en pointées de la figure 4.1) que les variations sur ζ_0 de 50 % ne produisent pas d'effet significatif sur la valeur de $\overline{SNR_p}$.

² Dû au fait que le filtre temporel utilisé pour extraire les signaux rétrodiffusés est appliqué juste après l'écho de la membrane de PVC, la distance z_0 est prise égale à $L/2$.

4.1.2 Particules de PLGA

4.1.2.a. Effet de la concentration

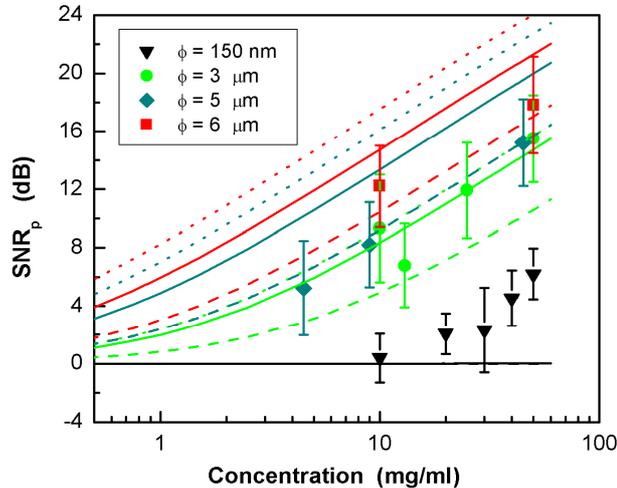


Figure 4.3. \overline{SNR}_p en fonction de la concentration de particules de PLGA (symboles). Les couleurs représentent les différents diamètres ϕ , des particules. Comparaison avec la théorie de Faran pour différents valeurs du coefficient de Poisson : $\sigma = 0,2$ (---) ; $\sigma = 0,4$ (—) et $\sigma = 0,49$ (....).

La figure 4.3 montre la variation de \overline{SNR}_p mesurée pour des solutions de particules de PLGA de $R = 3 ; 2,5 ; 1,5$ et $0,075 \mu\text{m}$. Sur la même figure on a tracé les variations de \overline{SNR}_p calculées à l'aide de l'équation 2.65 en admettant que les distributions des particules PLGA sont mono-dispersées. Leur masse volumique ($\rho_{diff} = 1,35 \text{ g/ml}$) et la vitesse longitudinale de l'onde dans le PLGA ($c_{||} = 2000 \text{ m/s}$) ont été déterminées expérimentalement au laboratoire. Cependant le coefficient de Poisson est inconnu. Les calculs sont donc présentés pour différents valeurs de σ . La valeur du paramètre $b^2/\zeta_0 = 10^8$ est tirée de l'expérience de normalisation effectuée sur les particules de polystyrène. On rappelle également qu'on avait montré que des variations de ζ_0 de l'ordre de 50 % n'induisent pas d'effets significatifs sur l'estimation de \overline{SNR}_p .

Pour les nanoparticules, ($\phi = 2R = 0,15 \mu\text{m}$) le modèle de Faran prédit un rehaussement négligeable (trait noir), en désaccord avec l'expérience où on observe $\overline{SNR}_p = 6 \text{ dB}$ pour $C = 50 \text{ mg/ml}$. Ce désaccord ne peut pas être attribué aux variations du coefficient de Poisson, car nous avons déjà montré qu'elles induisent des effets négligeables. Postérieurement, on fera

une analyse des autres causes probables qui peuvent expliquer cette déviation, comme la dispersion de taille et l'agglomération des particules (§ 4.1.2.d).

Le modèle de Faran ajuste de manière satisfaisante les résultats expérimentaux des particules de $\phi = 3 \mu\text{m}$ avec $\sigma = 0,4$. Avec cette même valeur de σ , le \overline{SNR}_p est surestimé de près de 5 dB pour les particules de $5 \mu\text{m}$ et de 2 dB pour celles de $6 \mu\text{m}$.

Les meilleurs ajustements sont obtenus avec $\sigma = 0,2$ pour $\phi = 5 \mu\text{m}$ et $0,2 \leq \sigma \leq 0,4$ pour $\phi = 6 \mu\text{m}$.

La figure 4.4 montre la variation avec la fréquence de la section différentielle de rétrodiffusion (équation 2.36) d'une particule de $5 \mu\text{m}$ de diamètre située à la distance focale de la sonde $r = Z_F = 12,25 \text{ mm}$.

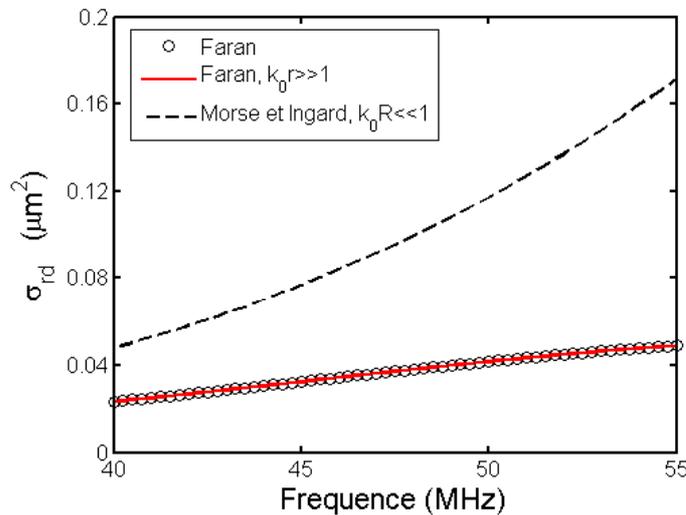


Figure 4.4. Section efficace différentielle de rétrodiffusion pour une particule de PLGA de $\phi = 5 \mu\text{m}$ placée à la distance focale Z_F . Expression générale de Faran (cercles), approximation pour les grandes distances (ligne rouge) et expression de Morse et Ingard (ligne noire segmentée).

Les résultats obtenus du modèle de Faran dans l'approximation des grandes distances ($k_0 r \gg 1$, équation 2.27) et du modèle de Morse et Ingard pour $k_0 R \ll 1$ (équation 2.39) sont comparées avec l'expression la plus générale du modèle de Faran équation 2.21).

L'expression de Morse et Ingard pour les petites tailles des particules (ici $k_0 R \approx 0,5$) s'éloigne progressivement du résultat général. Au contraire on observe que pour $k_0 r \gg 1$ (ligne rouge) l'approximation de Faran est équivalente au cas général (cercles), ce qui est raisonnable puisque ici $k_0 Z_F \approx 10^3$.

Ces résultats justifient l'utilisation de l'approximation "grandes distances" ou $k_0 r \gg 1$ (équation 2.27).

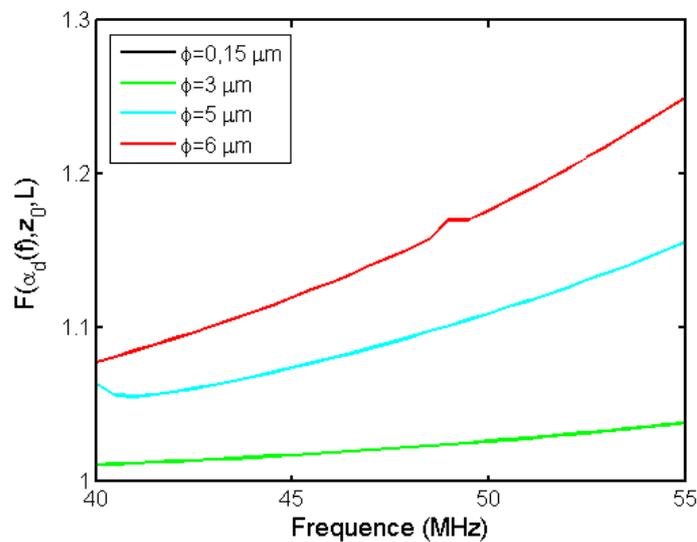


Figure 4.5. Facteur de compensation des pertes dues à l'atténuation (diffusion seule) pour $C = 50 \text{ mg/ml}$.

La figure 4.5 montre le calcul du facteur de compensation d'atténuation, $F(\alpha_d(f), L/2, L)$, en fonction de la fréquence pour une concentration de 50 mg/ml. Les différentes couleurs correspondent aux différentes tailles de particules. On observe que l'amplitude de $F(\alpha_d(f), L/2, L)$ est plus grande que celle calculée pour les particules de polystyrène, effet qui est en accord avec l'augmentation du rehaussement du signal par des particules de PLGA.

4.1.2.b. Effet des propriétés physiques du PLGA

Les propriétés physiques du polymère PLGA peuvent être ajustées en modifiant sa composition (i.e. quantité de PLA et PGA). De même, des variations de température et la présence de défauts (tels que des bulles d'air), peuvent affecter ses propriétés physiques.

L'effet des variations de ces propriétés sur le rehaussement de contraste est analysé ici en utilisant la théorie de Faran, en particulier pour des variations de la masse volumique (figure 4.6A) et du module de compressibilité (figure 4.6B) dans un domaine de 25 % autour de leurs valeurs déterminés expérimentalement au laboratoire ($\rho_{diff} = 1,35 \text{ g/ml}$ et $B = 5,4 \text{ GPa}$). Dans tous les cas, la valeur du coefficient de Poisson est prise égale à 0,4.

On observe dans cette étude, (figures 4.6A et B) une réduction importante du rehaussement de contraste lorsque la masse volumique du PLGA est réduite de 1,35 à 1 g/ml, alors qu'une augmentation du même ordre (de 1,35 à 1,6 g/ml) ne produit qu'un faible effet. La même

observation peut être faite lorsqu'on fait varier le module de compressibilité. Il est notoire d'observer que la variation des propriétés physiques de *PLGA* ne produit aucun effet sur le comportement des nanoparticules. Et en effet, dans tous les cas, la théorie de Faran prédit un rehaussement négligeable par rapport aux valeurs observées expérimentalement.

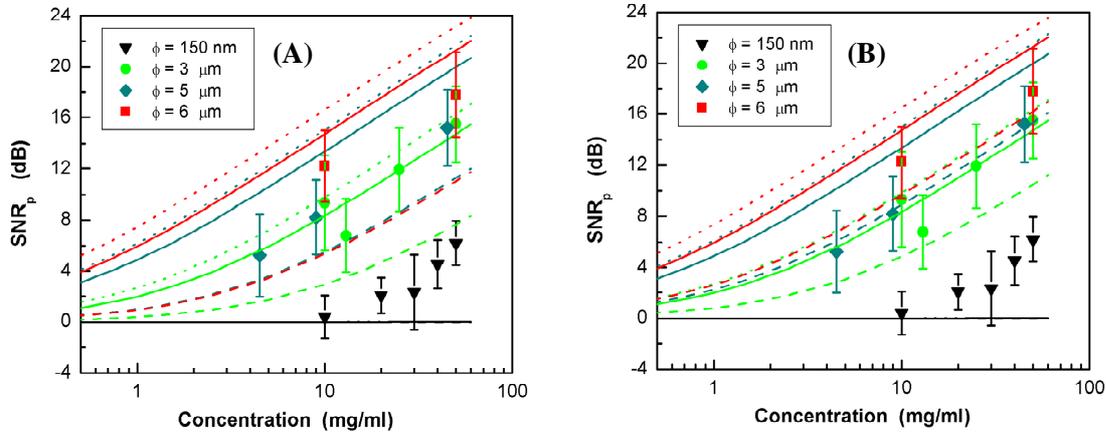


Figure 4.6. Effets des propriétés physiques des particules homogènes de *PLGA*. Les points expérimentaux sont représentés par des symboles et les prédictions de la théorie de Faran par des lignes continues. Masse volumique $\rho_{diff} = 1,0$ g/ml (---); 1,35 g/ml (—) et 1,6 g/ml (....). Rigidité $B = 3,5$ GPa (---); 5,4 GPa (—) et 8 GPa (....).

4.1.2.c. Effet de la taille des particules

Les valeurs de rehaussement de contraste en fonction de la concentration illustrées sur la figure 4.3 ne peuvent pas être interprétées directement. La puissance rétrodiffusée dépend du nombre de particules en solution, et pour une concentration fixe de particules, le nombre de particules croît à mesure que sa taille moyenne diminue. Ainsi, pour étudier l'effet de la taille il convient d'utiliser le \overline{SNR}_p unitaire (chapitre 3).

Le \overline{SNR}_p unitaire (ou \overline{SNR}_p par particule) ou \overline{SNR}_{pu} , considère la compensation de l'effet de la concentration de particules sur la puissance rétrodiffusée. En conséquence, dans le régime de diffusion simple, le \overline{SNR}_{pu} devrait être indépendant de la concentration de particules :

$$\overline{SNR}_{pu} = \overline{SNR}_p - 10 \log(N) \quad (\text{chapitre 3, équation 3.8}).$$

L'atténuation et les phénomènes de diffusion multiple modifient théoriquement la loi de proportionnalité entre la puissance rétrodiffusée et la concentration de particules. Ainsi, toute déviation (négative) par rapport à une valeur constante du \overline{SNR}_{pu} peut être attribuée à de tels phénomènes. En particulier, l'atténuation par diffusion des ondes rétrodiffusées pendant leur

parcours de retour à la sonde peut être interprétée comme due à un processus de diffusion multiple de premier ordre [3].

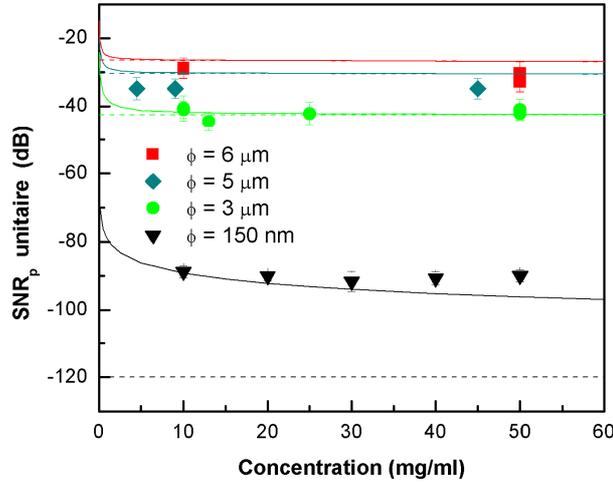


Figure 4.7. Variation de \overline{SNR}_{pu} avec la concentration C . Les lignes continues représentent les calculs effectués selon la théorie de Faran et les lignes segmentées les valeurs asymptotiques en considérant le biais du bruit en $1/N$.

La figure 4.7 montre le comportement du \overline{SNR}_{pu} en fonction de la concentration de particules de PLGA. On observe que \overline{SNR}_{pu} est bien indépendant de la concentration.

Le résultat obtenu est donc interprété comme une faiblesse relative des pertes par atténuation et diffusion multiple. Dans la gamme de concentrations utilisées la puissance rétrodiffusée peut donc être modélisée par un modèle de diffusion simple.

Dans le cas de diffusion simple (DS) le \overline{SNR}_p s'écrit :

$$\overline{SNR}_p^{DS} \approx 10 \log \left\{ 1 + \frac{8PSD_p(f_0)}{\zeta_0 Z_F^2 R_p^2} N \sigma_{rd}(f_0, R) \right\} = 10 \log \{ 1 + \beta N \},$$

$$\text{avec la constante } \beta = \frac{8PSD_p(f_0)}{\zeta_0 Z_F^2 R_p^2} \sigma_{rd}(f_0, R).$$

Dans le cas de diffusion multiple (DM) on peut considérer un comportement du type :

$$\overline{SNR}_p^{DM} \approx 10 \log \{ 1 + \beta N^\gamma \} \quad \text{avec } \gamma < 1. \quad \text{Le calcul de } \overline{SNR}_{pu} \text{ devient alors :}$$

$$\overline{SNR}_{pu}^{DM} = 10 \log \left\{ \frac{1}{N} + \beta N^{\gamma-1} \right\} \quad \text{avec une valeur asymptotique } (\beta N^\gamma \gg 1):$$

[3] Ishimaru Akira, "Wave propagation and scattering in random media", IEEE/OUP series on electromagnetic wave theory, New York: Academic Press, 1978.

$$\overline{SNR}_{pu}^{DM} \rightarrow 10 \log(\beta) + 10(\gamma - 1) \log(N) = \overline{SNR}_{pu}^{DS} + 10(\gamma - 1) \log(N) < \overline{SNR}_{pu}^{DS}$$

En conséquence il existe bien un biais dans le calcul du \overline{SNR}_{pu} associé à l'hypothèse d'un bruit blanc additif.

Pour une distribution monodisperse et d'atténuation négligeable $F(\alpha(f), L/2, L) \approx 1$:

$$\overline{SNR}_{pu} \approx 10 \log \left\{ \frac{1}{N} + \frac{8PSD_p(f_0)}{\zeta_0 Z_F^2 R_p^2} \sigma_{rd}(f_0, R) \right\}$$

Le facteur $1/N$, dû au bruit additif, introduit une déviation du comportement du \overline{SNR}_{pu} et tend vers zéro pour des grandes concentrations. Ainsi, le terme de bruit devient négligeable aux grandes concentrations et \overline{SNR}_{pu} tend alors vers sa valeur asymptotique :

$$\overline{SNR}_{pu} \rightarrow 10 \log \left\{ \frac{8PSD_p(f_0)}{\zeta_0 Z_F^2 R_p^2} \sigma_{rd}(f_0, R) \right\}$$

Sur la figure 4.7, on observe que pour les particules micrométriques on atteint rapidement une valeur asymptotique (lignes segmentées). Cependant, pour les nanoparticules, la section efficace différentielle de rétrodiffusion est beaucoup plus faible et la condition $\frac{8PSD_p(f_0)}{\zeta_0 Z_F^2 R_p^2} \sigma_{rd}(f_0, R) \gg 1$ n'est pas satisfaite dans le domaine de concentrations étudiées, ce qui introduit un biais important pour telles particules.

La variation de la valeur moyenne du \overline{SNR}_{pu} (pour $C \geq 10 \text{ mg/m}^3$) avec le rayon des particules est présentée sur la figure 4.8. On observe un comportement du type R^x (ligne noire). L'ajustement fournit une valeur de l'exposant, $x = 3,63 \pm 0,1$, proche de l'exposant théorique: $x = 4,1 \pm 0,1$ (ligne rouge continue), déterminé à partir de l'ajustement des valeurs moyenne du \overline{SNR}_{pu} (pour $C \geq 10 \text{ mg/m}^3$) prédites par Faran (lignes continues sur la figure 4.7).

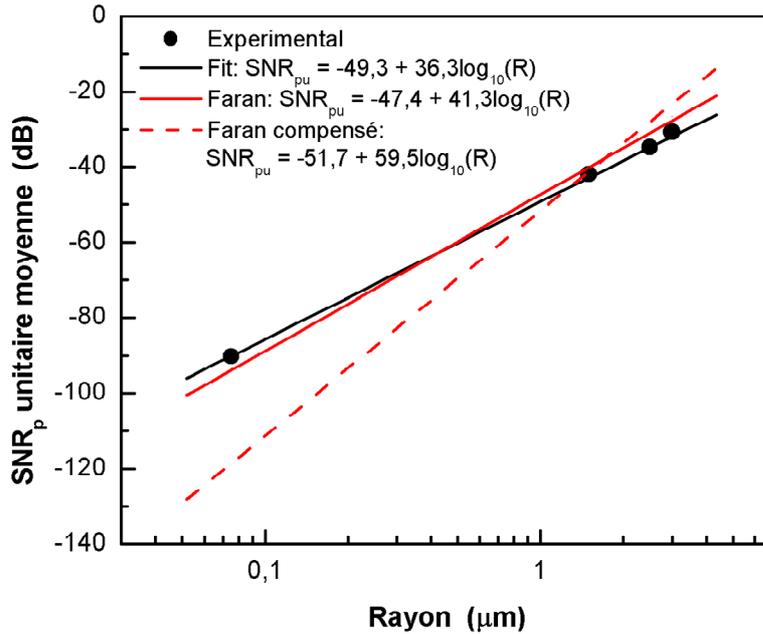


Figure 4.8. Variation du \overline{SNR}_{pu} en fonction du rayon, R , des particules homogènes de PLGA. Les symboles représentent les données expérimentales et les lignes divers ajustements (voir texte) (coefficient de Poisson $\sigma = 0,4$).

L'étude des valeurs asymptotiques du \overline{SNR}_{pu} aux grandes concentrations permet de négliger la contribution du bruit en $1/N$. Ainsi, l'ajustement des valeurs moyennes du \overline{SNR}_{pu} asymptotiques (pour $C \geq 10 \text{ mg/ml}$) prédites par la théorie de Faran (lignes segmentées sur la figure 4.7), montrent un exposant $x = 5,95 \pm 0,02$ (ligne rouge segmentée dans la figure 4.8), proche du comportement du type Rayleigh R^6 décrite par l'équation 2.29 pour $k_0 R \ll 1$.

Le biais dû au bruit produit donc en première approximation une déviation de 1,8 dans l'exposant du comportement R^x . En conséquence, on peut estimer que l'exposant obtenu à partir des données expérimentales peut être compensé de la même façon, et présente ainsi un exposant $x = 5,4 \pm 0,2$.

4.1.2.d. Effet de la dispersion en taille et agglomération des particules

Nous analyserons ici l'amplitude des effets de dispersion de taille et d'agglomération des particules. On prêtera une attention spéciale aux conséquences de tels effets susceptibles d'expliquer le rehaussement négligeable prédit pour les nanoparticules.

L'effet de la dispersion de la taille est analysé en considérant une distribution gaussienne de la taille autour de la valeur moyenne du rayon :

$$n(R') = \frac{n}{\sqrt{2\pi}\sigma_R} e^{-\frac{(R'-R)^2}{2\sigma_R^2}}$$

La déviation σ_R est choisie de façon de produire un pourcentage spécifique p_R de dispersion :

$$\sigma_R = \frac{p_R R}{\sqrt{2 \ln 2}}$$

Le coefficient de rétrodiffusion est calculé en utilisant l'équation 2.37.

L'effet de l'agglomération de particules peut être analysé en supposant que la réponse acoustique générée par un nombre N_a de particules agglomérées de rayon R est similaire à celle qui serait produite par une particule sphérique de rayon R_{ex}^* de la même masse totale :

$$R_{ex}^* = (N_a)^{1/3} R$$

La diminution du nombre des particules est donnée par :

$$N^* = N/N_a$$

Le \overline{SNR}_p théorique, pour une distribution monodispersée et en négligeant l'atténuation, est donné par :

$$\overline{SNR}_p^* \approx 10 \log \left\{ 1 + \frac{8PSD_p(f_0)}{\zeta_0 Z_F^2 R_p^2} N^* \sigma_{rd}(f_0, R_{ex}^*) \right\}$$

Pour les nanoparticules, on peut considérer que le comportement de type Rayleigh est valide ($k_0 R_{ex}^* \ll 1$) :

$$\sigma_{rd}(f_0, R_{ex}^*) \approx \sigma_{rd}(f_0, R) N_a^2$$

Alors, le \overline{SNR}_p théorique pour N_a particules de rayon R agglomérées s'écrit :

$$\overline{SNR}_p^* \approx 10 \log \left\{ 1 + \left(\frac{8PSD_{p \max}}{\zeta_0 Z_F^2 R_p^2} N \sigma_{rd}(f_0, R) \right) N_a \right\}$$

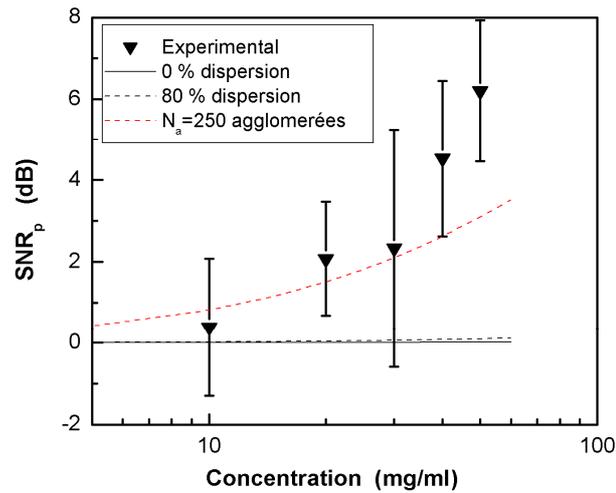


Figure 4.9. Effet de la dispersion de la taille et de l'agglomération pour les nanoparticules ($\phi = 0,15$). Les points expérimentaux sont représentés par les symboles et les calculs réalisés en utilisant la théorie de Faran par les lignes. La ligne noire segmentée représente une dispersion de 80 %. L'effet de l'agglomération de $N_a = 250$ ($R_{ex}^* = 0,47\mu\text{m}$) est représenté par la ligne rouge segmentée. Le coefficient de Poisson est fixe à 0,4.

Sur la figure 4.9 est représenté l'effet de la dispersion de taille (ligne noire segmentée) pour les nanoparticules $R = 75$ nm. Une dispersion de l'ordre de 80 % n'est de toute évidence pas susceptible d'expliquer le résultat expérimental, la dispersion de la taille ne peut pas être la cause du comportement observé. Sur la même figure est illustré l'effet de l'agglomération (ligne rouge segmentée). On observe que même un agglomérat de $N_a = 250$ particules, qui équivaut à une macro-particule de rayon effectif $R_{ex}^* \approx 460$ nm, ne reproduit que partiellement l'augmentation observée expérimentalement.

Cependant, la façon de modéliser l'effet de l'agglomération est sujette à la validité de l'hypothèse de la particule de masse équivalente. Il n'existe pas de modèles plus complexes ou de simulations numériques qui prédisent qu'un tel comportement puissent être du à la présence de ces agglomérats.

4.3. Solutions d'ACU à cœur liquide

4.1.3 Reproductibilité du processus de fabrication

La figure 4.10A représente la variation du SNR_p avec la concentration d'ACU de $6\ \mu\text{m}$ de diamètre et $T/R = 0,35$. La différence entre les différents lots, fabriqués à des dates qui s'échelonnent sur une année, est compatible avec la dispersion des mesures. Il en est de même pour les particules de 3 , 2 et $0,15\ \mu\text{m}$ (figure 4.10 B à D).

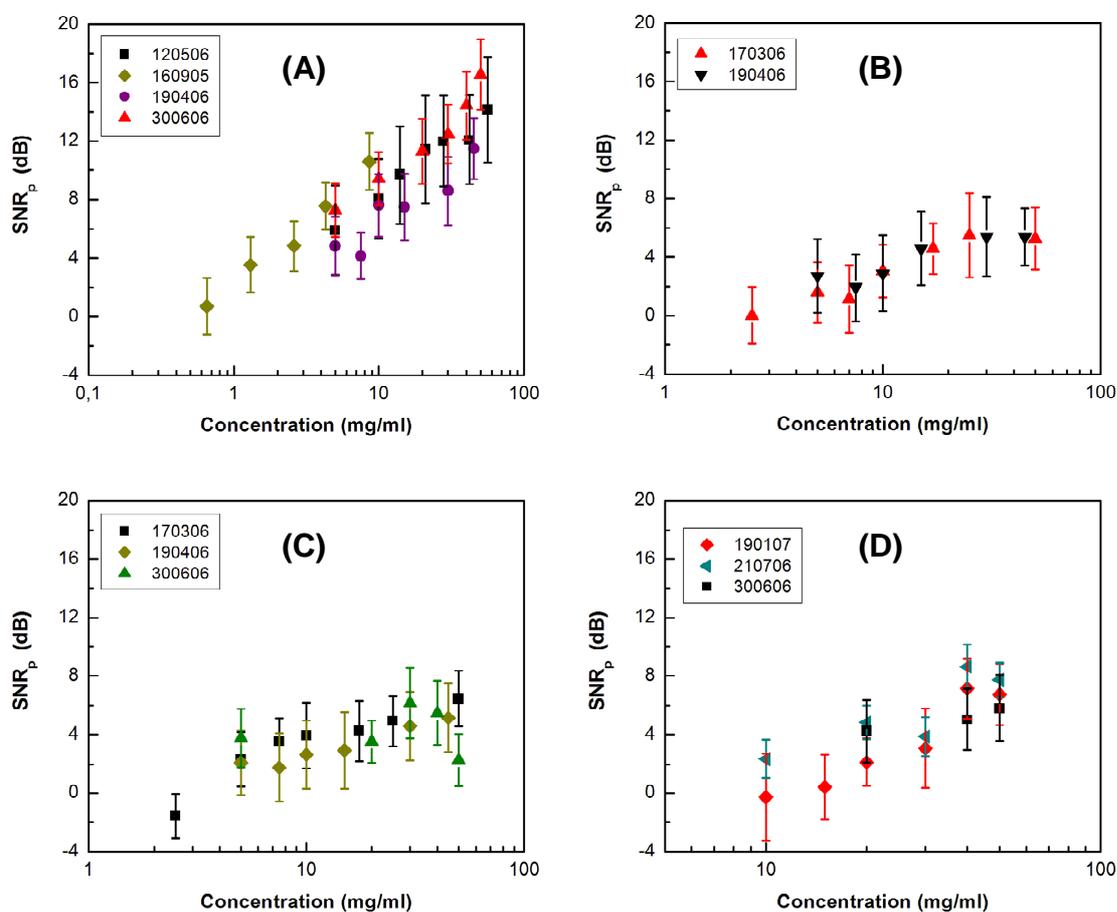


Figure 4.10. Reproductibilité des mesures de rehaussement de contraste pour des particules d'ACU de paramètre $T/R = 0,35$. (A) : $6\ \mu\text{m}$ (4 lots); (B) : $3\ \mu\text{m}$ (2 lots); (C) : $2\ \mu\text{m}$ (3 lots) et (D) : $150\ \text{nm}$ (3 lots).

L'effet de la variation du niveau de bruit sur la reproductibilité des mesures de rehaussement peut être visualisé grâce à ces figures. Par exemple, sur la figure 4.10A on peut constater que la variation significative du niveau du bruit entre les lots 120506 et 300606 observée sur la

figure 12 de l'Annexe 2 ne produit pas d'effets notaires sur la reproductibilité des mesures de rehaussement de contraste.

4.1.3.a. Effet de la concentration en particules

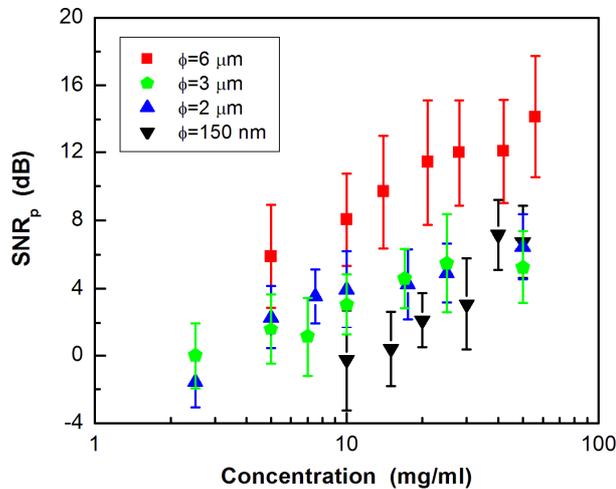


Figure 4.11. Variation du \overline{SNR}_p avec la concentration en particules. Pour toutes les particules $T/R = 0,35$

La figure 4.11 illustre l'effet de la concentration en particules sur le \overline{SNR}_p . Contrairement aux particules de 2, 3 et 0,15 μm , dont l'échogénicité est similaire et les valeurs maximales de rehaussement proches de 6 dB pour $C = 50 \text{ mg/ml}$ (soit $n = 7,9 \cdot 10^9$, $2,4 \cdot 10^9$ et $1,9 \cdot 10^{13}$ particules/ml respectivement), les particules de 6 μm sont bien plus échogènes avec un maximum de rehaussement de l'ordre de 14 dB pour une même concentration de particules (soit $n = 2,9 \cdot 10^8$ particules/ml).

Etant donné qu'une augmentation de la taille des particules diffusantes s'accompagne d'une réduction de leur nombre, et que malgré cet effet, on observe une augmentation du rehaussement de contraste, on peut dire que l'effet de la taille prédomine sur l'effet de la concentration.

4.1.3.b. Effet de la taille des particules

Puisque, pour une concentration fixe, le nombre de particules croît à mesure que leur taille moyenne diminue, l'interprétation des courbes représentées sur la figure 4.11 doit en tenir compte. Ainsi, pour étudier l'effet de la taille de particules, nous utiliserons le \overline{SNR}_p unitaire. La figure 4.12A montre la variation du \overline{SNR}_{pu} avec la concentration de particules pour lesquelles $T/R = 0,35$. Pour de faibles concentrations on observe une diminution de l'ordre de 5 dB pour les particules micrométriques, effet probablement liée au comportement prédit pour les

particules homogènes de PLGA (figure 4.7). Pour les fortes concentrations le $\overline{SNR_{pu}}$, est quasi indépendant de C confirmant ainsi l'hypothèse d'atténuation négligeable des solutions étudiées. Pour les particules de 2, 3 et 6 μm le $\overline{SNR_{pu}}$ est respectivement supérieur de 31, 36 et 53 dB à la valeur de saturation des nanoparticules (- 88 dB).

La variation du $\overline{SNR_{pu}}$ moyen pour $C \geq 10$ mg/ml avec le rayon (figure 4.12B) suit une loi de puissance (R^x ; $x = 3,4 \pm 0,2$) proche de celle observée (figure 4.8) pour les particules homogènes de PLGA : $x = 3,63 \pm 0,1$.

Il apparaît donc que le cœur de PFOB affecte peu la loi de variation du $\overline{SNR_{pu}}$ avec la taille.

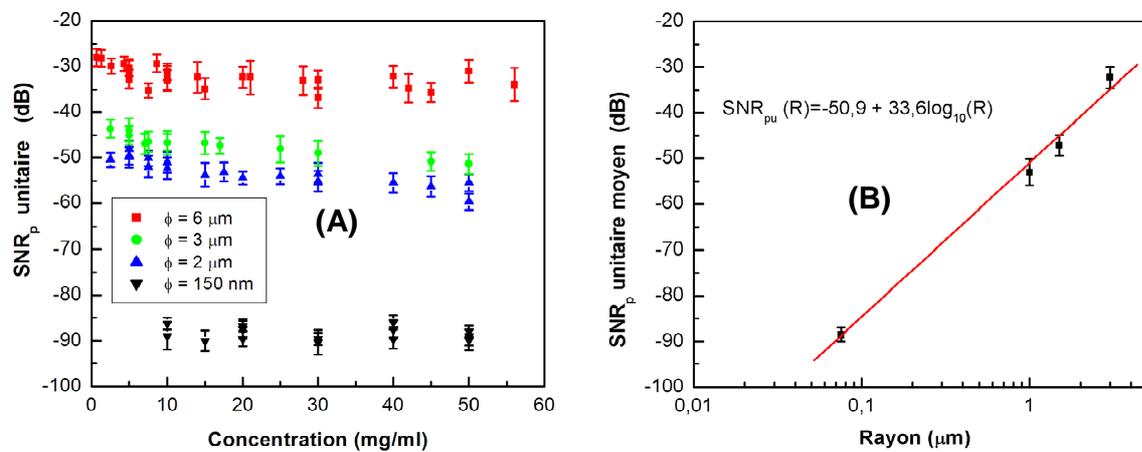


Figure 4.12. Effet de la taille sur $\overline{SNR_p}$ unitaire ($\overline{SNR_{pu}}$) pour particules d'ACU de paramètre d'épaisseur $T/R = 0,35$. (A) Variation avec la concentration. (B) Variation de la valeur moyenne de $\overline{SNR_{pu}}$ pour $C \geq 10$ mg/ml avec le rayon des ACU.

4.1.3.c. Effet de l'épaisseur de la capsule de PLGA (T/R)

Les figures 4.13A et 4.13B illustrent la variation du $\overline{SNR_p}$ avec l'épaisseur de la capsule du polymère de PLGA pour quatre valeurs du paramètre d'épaisseur ($T/R = 0,25, 0,35, 0,54$ et 1).

La figure 4.13A présente l'effet de l'épaisseur pour les particules de 6 μm de diamètre. Pour $T/R = 0,25$ le rehaussement sature à près de 8 dB pour $C = 50$ mg/ml. Pour des épaisseurs plus importantes ($T/R = 0,35$ et $0,54$) le $\overline{SNR_p} \approx 17$ dB est le même que celui des particules pleines ($T/R = 1$).

L'effet de l'épaisseur pour les nanoparticules est montré sur la figure 4.12B. Contrairement aux particules de 6 μm , on observe que, pour un rapport d'épaisseur de $T/R = 0,25$, le

rehaussement est relativement plus élevé que celui observé pour les coques plus épaisses et sature près de 9 dB à 50 mg/ml.

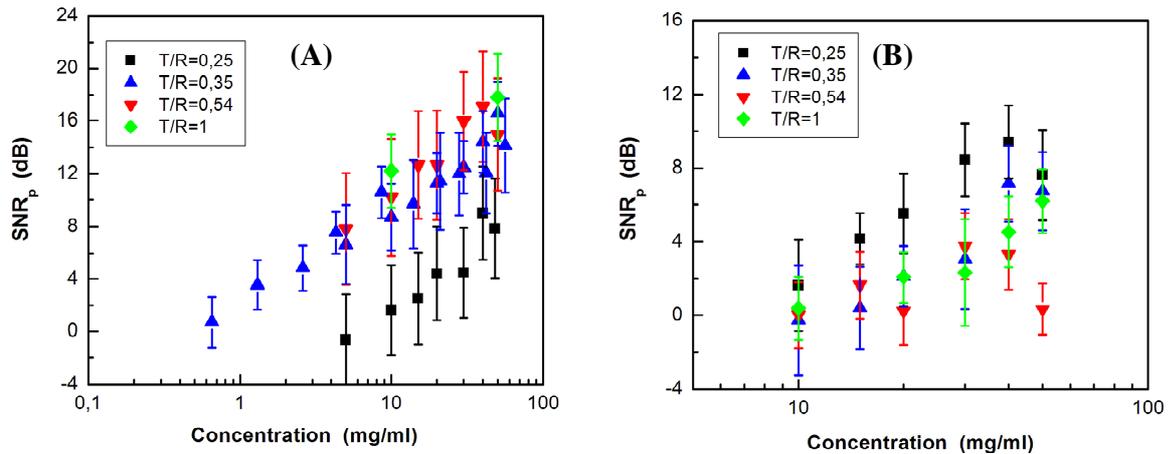


Figure 4.13. Variation avec la concentration du \overline{SNR}_p pour quatre épaisseurs de capsules $T/R = 0,25 ; 0,35 ; 0,54$ et 1 (A) Particules de $6 \mu\text{m}$. (B) particules de $0,15 \mu\text{m}$.

Un changement dans l'épaisseur de la capsule modifie la masse de l'ACU (équation 3.10), ce qui a pour effet de modifier le nombre des particules présentes pour une même concentration massique. En conséquence, le comportement du \overline{SNR}_p en fonction de T/R doit être plutôt analysé en utilisant le \overline{SNR}_p unitaire (figure 4.14).

On observe que pour toutes les épaisseurs de la capsule (figure 4.14A et B) le \overline{SNR}_{pu} est indépendant de la concentration. Pour une même taille micrométrique de particule, on observe que le \overline{SNR}_{pu} augmente lorsque le rapport T/R augmente (i.e. l'épaisseur de capsule croît) et devient maximum pour une particule homogène de PLGA (i.e. $T/R = 1$). Ceci montre que le cœur liquide de PFOB ne favorise pas l'échogénéicité d'une particule micrométrique.

Cependant pour les particules nanométriques on observe que le \overline{SNR}_{pu} décroît lorsque que le rapport T/R augmente pour une taille constante. Par conséquent et contrairement aux microparticules, le cœur liquide de PFOB augmente l'échogénéicité des nanoparticules.

Ces résultats démontrent que l'effet de l'épaisseur est un phénomène complexe qui dépend notamment de la taille des particules.

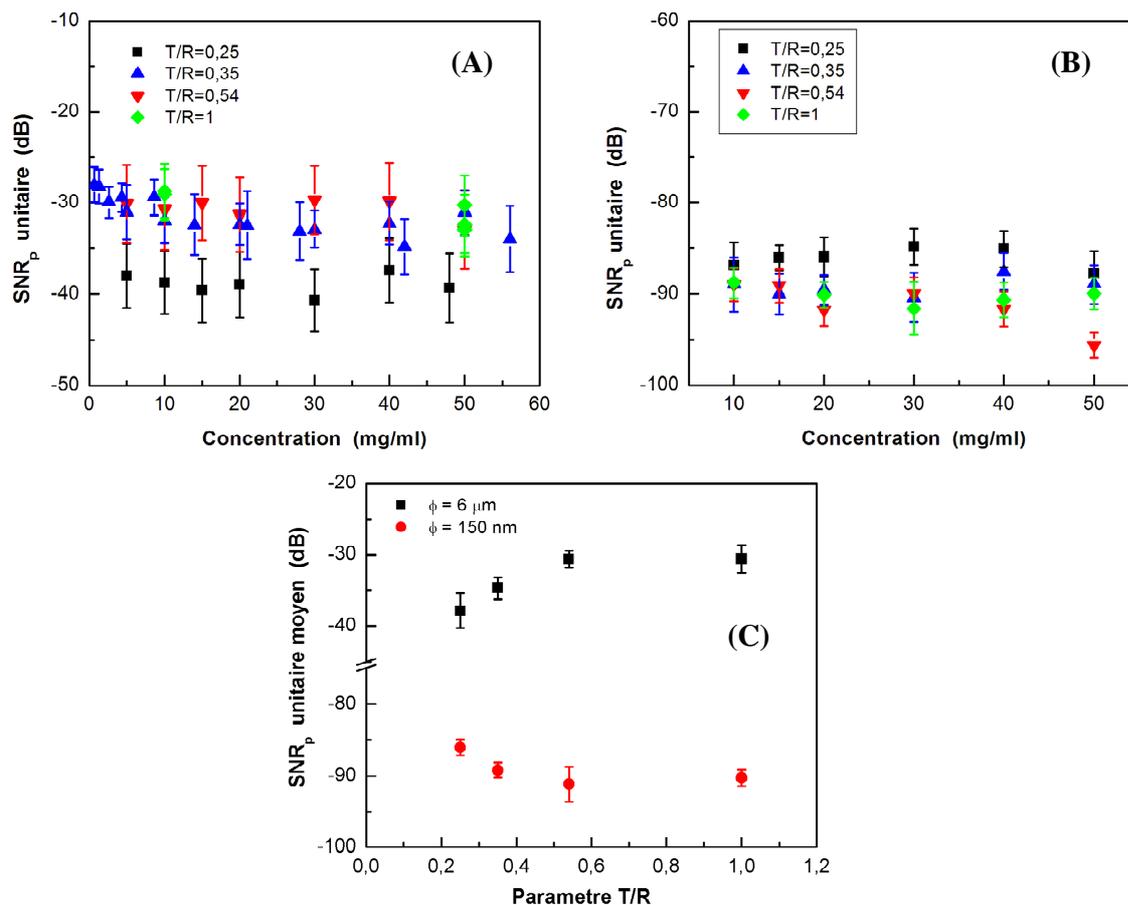


Figure 4.14. \overline{SNR}_p en fonction de l'épaisseur de la capsule du PLGA (paramètre T/R).
 (A) particules de 6 μm de diamètre. (B) et des particules de 0,15 μm . (C) Moyenne sur les concentrations 6 μm (noire) et 150 nm (rouge).

4.1.3.d. Effet de la composition de la capsule PLGA-PLA

Puisque l'échogénéicité des ACU est affectée par l'épaisseur de la capsule, la composition de cette dernière devrait être un facteur essentiel dans son comportement échogénique. Nous avons étudié deux types de capsules : l'une composé de PLGA, l'autre de PLA (acide polylactide).

La figure 4.15 montre les variations du \overline{SNR}_p avec la concentration d'ACU pour des capsules de PLGA et PLA. On n'observe pas de différences significatives entre les deux types de capsules.

Pour pouvoir évaluer l'effet de la composition il serait nécessaire d'utiliser le \overline{SNR}_p unitaire. Cependant, comme la masse volumique du PLA n'est pas connue, ce calcul ne peut pas être effectué correctement.

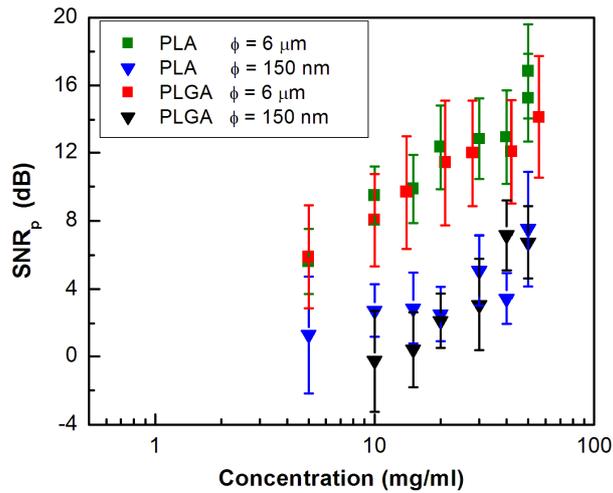


Figure 4.15. Variation avec la concentration du \overline{SNR}_p pour des solutions d'ACU de 6 et 0,15 μm de diamètre ($T/R = 0,35$) encapsulées soit avec du PLA ou soit avec du PLGA.

4.4. Conclusion

L'étude du rehaussement de contraste des particules homogènes de polystyrène nous a permis de vérifier le caractère additif du bruit en validant ainsi la méthode proposée dans le chapitre 2 pour l'estimer à partir des modèles de diffusion simple (figure 4.1). L'ajustement des valeurs expérimentales nous a aussi permis d'estimer la valeur du paramètre inconnu b^2/ζ_0 et de montrer que les variations de 50 % sur ζ_0 ne produisent pas d'effets considérables sur la valeur de \overline{SNR}_p .

L'analyse des résultats obtenus pour les particules homogènes de PLGA montre que la théorie de Faran prédit bien le comportement observé pour les microparticules, où les différences observées peuvent être attribuées à des différences sur les propriétés physiques du polymère de PLGA (figures 4.3 et 4.6). Néanmoins, pour les nanoparticules ce problème reste toujours ouvert. L'étude de l'effet de la taille de particules, indique un comportement en $R^{5,4}$ proche du comportement du type Rayleigh R^6 (équation 2.29).

L'étude consacrée aux particules d'ACU montre que l'effet de la taille de particules prédomine sur l'effet de la concentration, avec un rehaussement maximum de l'ordre de 14 dB pour les particules de 6 μm de diamètre (figure 4.11). L'étude de l'effet de la taille montre un comportement proche de celui qui est observé pour les particules homogènes, ce qui montre

que le cœur de *PFOB* n'affecte que peu la loi de variation du $\overline{SNR_{pu}}$ en fonction de la taille (figure 4.12). Par ailleurs, l'étude de l'effet de l'épaisseur de la coque de *PLGA* montre qu'il s'agit d'un phénomène complexe qui dépend aussi de la taille des particules.

Tant l'étude dédiée aux particules homogènes que celle consacrée aux particules d'*ACU* n'ont pas montrées de façon évidente la présence de phénomènes de diffusion multiple et/ou de pertes par atténuation.

Chapitre 5 : Résultats in silico. Etude numérique de la réponse acoustique des ACU.

5.1 Introduction

Dans ce chapitre, nous commencerons par comparer les résultats issus de la théorie de Faran pour un cylindre (équation 2.20, et figure 2.3) avec les simulations numériques obtenues à partir du code SimSonic pour des cartes bidimensionnelles (figure 5.1-a). Nous avons ensuite simulé la réponse acoustique obtenue pour un disque isolé d'ACU, puis à un ensemble aléatoire de tels disques. Cette dernière partie est présentée dans un article joint en fin de chapitre. La réponse comporte outre l'écho principal des échos secondaires. Les différentes origines possibles de ces échos sont données en annexe 3.

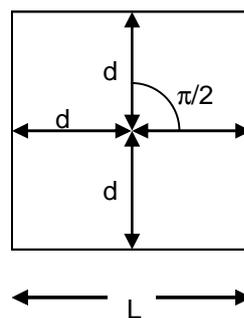


Figure 5.1.a : Repères et notations des cartes bidimensionnelles utilisées

Deux types de cartes ont été utilisés :

- Carte A : taille $L = 400 \mu\text{m}$, pas spatial $\Delta h = 0,2 \mu\text{m}$ (2000 points de grille), distance au centre du disque $d = 190 \mu\text{m}$.

- Carte B : taille $L = 240 \mu\text{m}$, pas spatial $\Delta h = 0,06 \mu\text{m}$ (4000 points de grille) et $d = 114 \mu\text{m}$. Cette carte, au maillage plus fin, est mieux adaptée pour des disques de rayon inférieur à $4 \mu\text{m}$. Pour des objets plus grands une carte de type A sera utilisée.

Les signaux diffusés sont analysés par trois transducteurs (de compression) ponctuels situés à la distance d du centre du disque diffuseur. Ils sont positionnés aux angles $\theta = \pi/2, 3\pi/4$ et π par rapport à la direction de propagation.

Afin d'éviter les éventuelles réflexions provenant de la paroi opposée, situé en $x = L$, une fenêtre de type Tukey de durée $\Delta T_{diff} = L/c_{eau}$ (avec un coefficient de Hanning de $h = 0,5$ (voir chapitre 3.2.1.2, équation 3.2) est appliquée aux signaux reçus à partir de leurs temps d'arrivée $T_{ci} = 2(d - R)/c_{eau} \approx 2d/c_{eau}$; ($R \ll d$).

Une impulsion d'une durée de $0,04 \mu\text{s}$ comportant 2 sinusoïdes à 50 MHz ($\lambda_{eau} = 30 \mu\text{m}$) est émise par la barrette source, dont la bande passante à -3dB est comprise entre 30 et 75 MHz .

Les transducteurs traduisent les fluctuations des contraintes T_{xx} et T_{yy} aux positions où ils sont disposés. Par conséquent, les signaux reçus aux angles $\theta = \pi$ et $\pi/2$ correspondent respectivement aux fluctuations T_{xx} et T_{yy} . En absence de disque d'ACU, ils reçoivent uniquement le signal parasite du bord de la barrette émettrice (voir la figure 5.1).

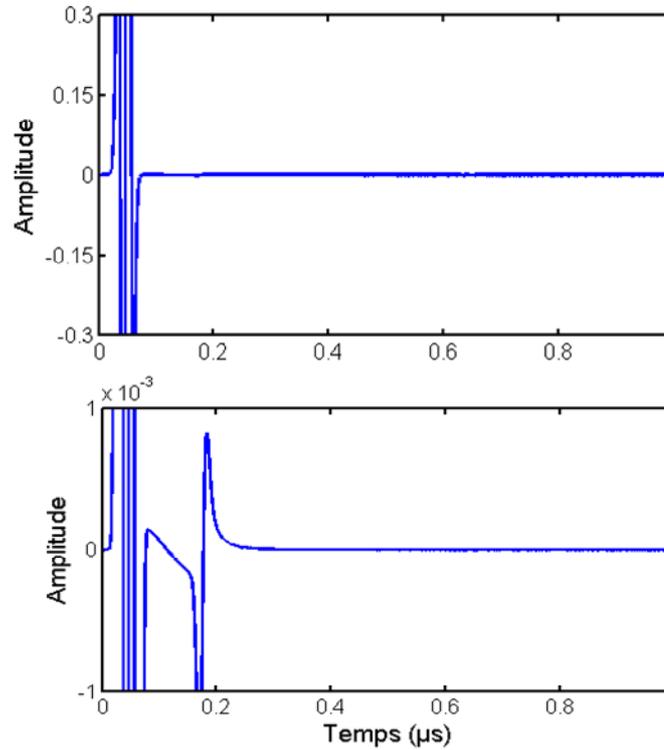


Figure 5.1: En haut : Signal obtenu à partir d'une simulation d'un domaine sans disque pour une carte de type A. En bas : zoom sur le même signal pour montrer l'écho parasite (□).

5.2 Une particule homogène

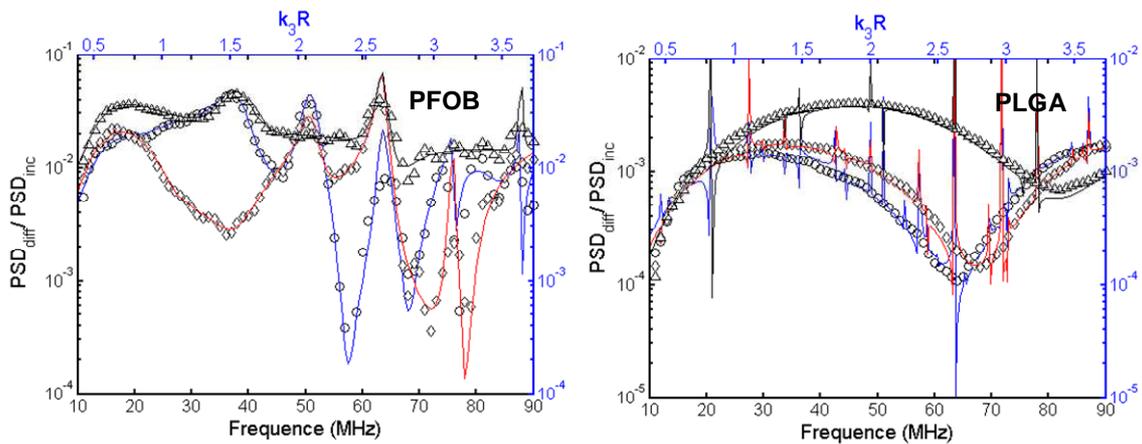


Figure 5.2. Diffusion d'une impulsion incidente de 50 MHz par un disque de 10 mm de rayon de PFOB (à gauche) et de PLGA (à droite). Les résultats obtenus par la simulation numérique SimSonic sont représentés par les symboles : (○) à $\theta = \pi$, (◇) à $\theta = 3\pi/4$ et (Δ) à $\theta = \pi/2$. Les résultats issus du modèle de Faran sont illustrés par les lignes continues (symbole identique).

La figure 5.2 présente, pour un disque de rayon $R = 10 \mu\text{m}$, les spectres de puissance des signaux rétrodiffusés normalisés par le spectre du signal incident pour un disque soit liquide,

soit solide. Le disque est placé au centre d'une carte de type A. Les propriétés du *PFOB* et du *PLGA* sont données dans la table 3.2 (chapitre 3.3.4). Sur la figure 5.3, nous avons présenté le signal diffusé à $\theta = \pi$ par un disque de $R = 3 \mu\text{m}$ composé de *PFOB* ou de *PLGA* et obtenu soit analytiquement par le modèle de Faran (trait continu) soit numériquement en utilisant une carte de type B.

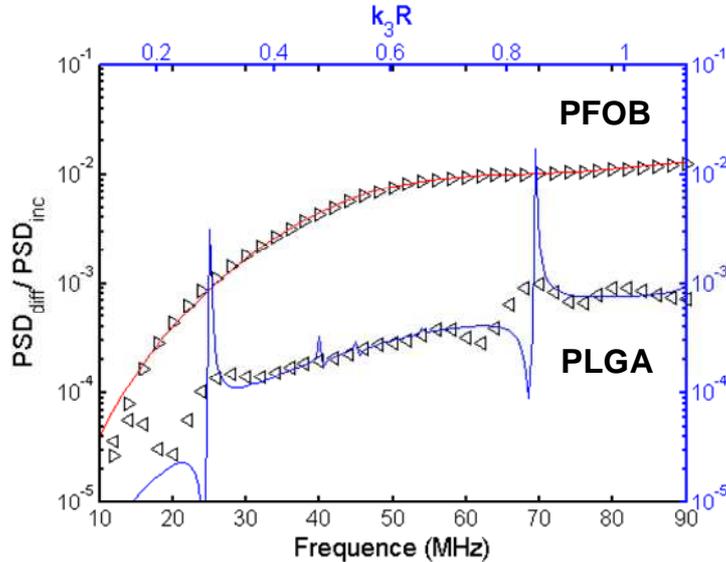


Figure. 5.3. Diffusion à $\theta = \pi$ par un disque de 3 mm de rayon de *PFOB* et de *PLGA* (carte type B). Dans le deux cas l'impulsion incidente est de 50 MHz.

Pour les deux tailles de particules ($R = 3$ et $10 \mu\text{m}$), on constate un bon accord entre les simulations et la théorie de Faran à tous les angles θ . Les pics, observés pour le modèle de Faran correspondent aux modes de vibration libre (ou résonances) de l'obstacle, où le dénominateur de la fonction $\tan\phi$ devient nul (algorithmes représentés sur les figures 2.2 et 2.3 du chapitre 2). Ces pics ne sont pas observés dans les simulations numériques parce que le maillage n'est pas assez fin.

En conclusion, nos simulations prédissent correctement le comportement acoustique d'une particule homogène.

5.3 Une particule d'ACU

On s'intéresse ici au calcul du signal rétrodiffusé, c'est-à-dire reçu par la barrette située à un angle $\theta = \pi$, par une particule unique d'ACU (i.e. composée d'une coque de *PLGA* entourant un cœur liquide de *PFOB*).

5.3.1 Variation de la taille

Dans cette section, l'épaisseur T de la capsule de *PLGA* varie de manière à conserver le rapport T/R constant ($= 0,35$). Nous analyserons l'effet de la variation du rayon, R , sur la puissance du signal rétrodiffusé, pour des valeurs comprises entre 1 et 22 μm .

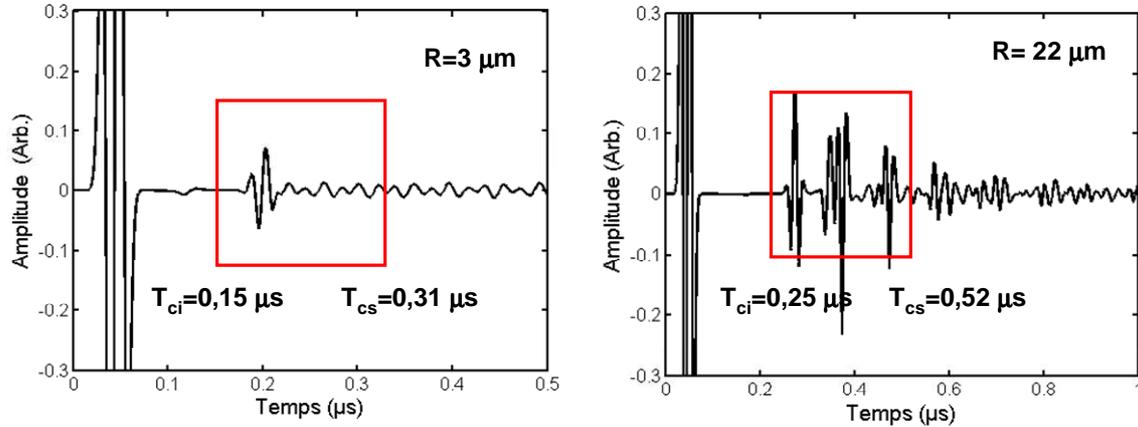


Figure 5.4. Signal rétrodiffusé par un disque d'ACU de rapport $T/R = 0,35$ et de rayon $R = 3 \mu\text{m}$ ($T = 1,05 \mu\text{m}$) et $R = 22 \mu\text{m}$ ($T = 7,7 \mu\text{m}$). La durée de la fenêtre correspond au temps $0,16 \text{ ms}$ pour $R = 3 \mu\text{m}$ et de $0,267 \mu\text{s}$ pour $R = 22 \mu\text{m}$. Le cadre représente la partie du signal extraite par la fenêtre de Tukey et qui est utilisée pour le calcul du spectre de puissance du signal rétrodiffusé. T_{ci} et T_{cs} sont les temps de coupure inférieure et supérieure respectivement.

La figure 5.4 montre le signal reçu par le capteur situé à un angle de $\theta = \pi$, proche de la barrette émettrice. On observe d'abord le passage de l'onde incidente et puis, à un temps approximativement égal à $2d/c_{eau}$, l'arrivée du signal rétrodiffusé (pour une vitesse de l'onde dans l'eau de 1500 m/s).

Pour des disques de rayon compris entre $R = 1$ et 4 μm , on rappelle qu'on a utilisé une carte type *B* avec $d = 114 \mu\text{m}$ (distance entre les 3 récepteurs et le centre). Par conséquent le temps d'arrivée du signal diffusé (écho principal réfléchi par la face avant de l'ACU) est estimé entre 0,1507 μs et de 0,1467 μs (figure 5.4 gauche). Pour les rayons compris entre $R = 4$ et 22 μm , (figures 5.5 et 5.4 droite), une carte de type *A* a été utilisée avec une distance $d = 190 \mu\text{m}$. Le temps d'arrivée du signal diffusé est de 0,248 μs pour le disque de 4 μm et de 0,224 μs pour celui de 22 μm .

On y observe un signal parasite situé avant l'écho rétrodiffusé principal. Ce signal est produit par des phénomènes de diffraction aux bords de la barrette émettrice et apparaît à un temps correspondant au parcours de l'onde sphérique entre les extrémités de la barrette émettrice et la sonde réceptrice ponctuelle 1. Par exemple, pour la carte de type *A*, cet écho apparaît à environ 0,14 μs , temps compatible avec celui qui est obtenu en considérant le parcours entre

l'extrémité de la barrette émettrice et la barrette ponctuelle $t = \sqrt{(L/2)^2 + (L/2 - d)^2} / c_{eau} = 0,1335$ μs [1].

Lorsque la taille des disques augmente, on observe l'apparition d'échos secondaires, produits soit par des réflexions internes dans la particule soit par des ondes de surface qui circulent autour de la particule [2,3,4]. Le deuxième écho apparaît à 0,071 μs approximativement du premier l'écho rétrodiffusé (calcul effectué en prenant le premier passage par zéro, résolution temporelle 6×10^{-5} μs), retard qui est compatible avec le temps de parcours des réflexions internes $2\Delta t_{part} = 2(2T/c_{||,2} + 2(R-T)/c_{||,1}) = 0,109$ μs . Ce temps décroît à mesure que la taille de la particule diminue et à partir d'une taille de $R = 10$ μm les échos commencent à se chevaucher (figure 5.5 gauche). La présence de réflexions internes ou d'ondes de surface peuvent chacune expliquer la diminution du décalage entre les échos primaires et secondaires, étant donné que la réduction de la taille de la particule induit une diminution du temps de parcours à l'intérieur et sur la surface de la particule.

On observe de plus une diminution graduelle de l'amplitude des échos secondaires lorsque la taille des particules diminue, ceci peut être attribué aux pertes par radiation pendant leur génération [2,3].

On observe également que l'amplitude du premier écho secondaire est plus grande que celle de l'écho rétrodiffusé principal (réflexion spéculaire), et de plus la forme des échos est différente. Ces différences sont très probablement dues à des interférences entre les ondes diffusées secondaires.

Nous observons également ces échos aux angles $\theta = 3\pi/4$ et $\pi/2$ (figure 5.5 gauche), où l'on constate qu'ils se rapprochent lorsque l'angle de diffusion décroît de $\theta = \pi$ à $\pi/2$. Il existe en plus un retard du signal incident dû à la position des récepteurs : $s_1 = L/2 - d$, $s_2 = L/2 - d \cos(\pi/4)$ et $s_3 = L/2$ à $\theta = \pi$, $3\pi/4$ et $\pi/2$, respectivement. La diminution de l'intensité du signal est due au fait que la composante de l'onde plane à quasi plane n'est pas alignée avec la direction de sensibilité de la sonde de compression T_{yy} (figure 5.5).

Une première interprétation des différentes origines de ces échos secondaires est donnée dans l'annexe 3.

[1] Emmanuel Bossy, *Evaluation ultrasonore de l'os cortical par transmission axiale: modélisation et expérimentation in vitro et in vivo*, Thèse de Doctorat de l'Université Paris 6, 10 juillet 2003.

[2] Baddour R. E. et al., "High-frequency ultrasound scattering from microspheres and single cells", *J. Acoust. Soc. Am.*, Vol. 117, n°2, pp. 934- 943, 2005.

[3] Herbert Überall, "Acoustic scattering from elastic cylinders and spheres: surface waves (Watson transform) and transmitted waves, *Traitement du signal*, Vol. 2, n°5, pp. 353-357, 1985.

[4] Brill D., Gaunaud G., and Überall H., "The reponse-surface in elastic wave scattering", *J. Appl. Phys.*, Vol. 52, pp. 3205- 3214, 1981.

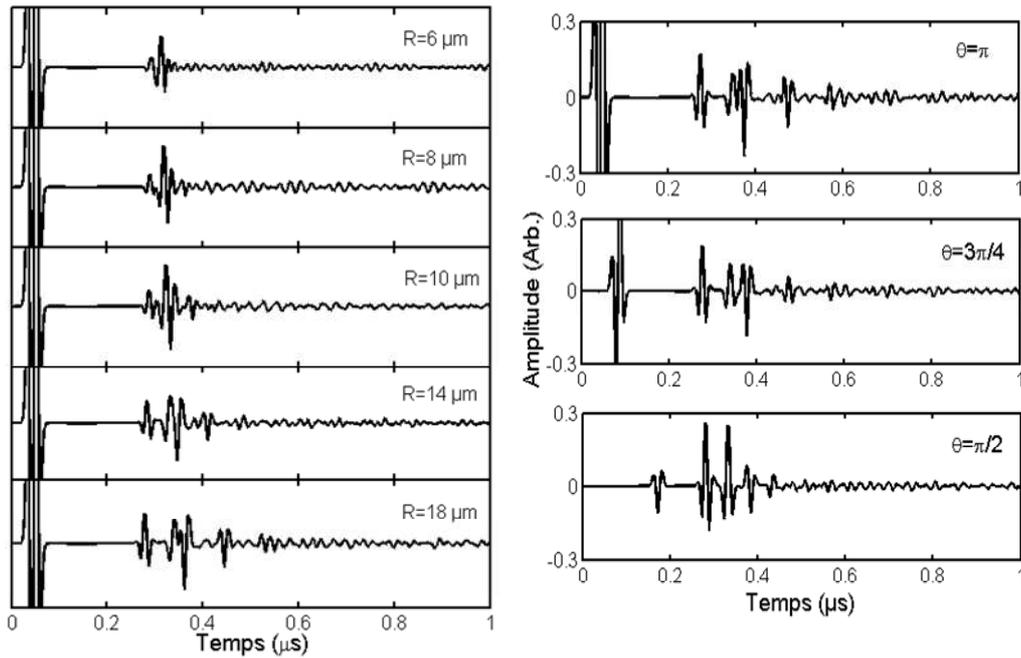


Figure 5.5 : Evolution du signal diffusé par un disque d'ACU $T/R= 0,35$.

A gauche : pour $\theta = \pi$ une variation du signal avec le rayon (à noter que l'échelle verticale est la même que celle utilisée dans la figure 5.4).

A droite : pour une particule de $22 \mu\text{m}$ de rayon, variation du signal avec l'angle de diffusion. L'amplitude du signal incident, très importante à un angle $\theta = \pi$, diminue de façon importante dans les autres directions car la composante de l'onde plane à quasi-plane n'est pas alignée avec la direction de sensibilité de la sonde (elle est pratiquement perpendiculaire à $\theta = \pi/2$). On observe le passage de l'onde incidente à $0,0368 \mu\text{s}$ (premier passage par zéro), $0,074 \mu\text{s}$ et $0,166 \mu\text{s}$ pour $\theta = \pi$, $3\pi/4$ et $\pi/2$ respectivement. Chaque retard est associé à la position des récepteurs.

La figure 5.6 présente les spectres de puissance des signaux rétrodiffusés normalisés par le spectre du signal incident pour $R = 1, 3, 10$, et $22 \mu\text{m}$. Pour des R petits et pour des fréquences relativement basses, la puissance du signal rétrodiffusée croît avec la taille R . Cet effet est moins prononcé pour les disques les plus gros ainsi que pour les hautes fréquences.

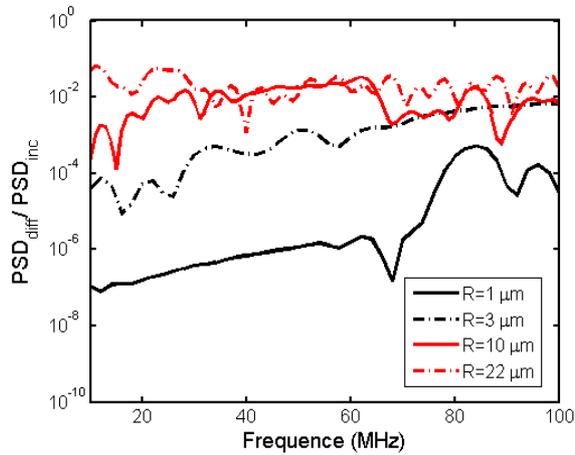


Figure 5.6. Spectres de puissance du signal rétrodiffusé normalisé pour des disques d'ACU de différents rayons.

Ces données ont été utilisées pour calculer la Puissance Relative diffusée à $\theta = \pi$ (*PRD*) présentée sur la figure 5.7. L'effet de la distance à laquelle est placée la barrette réceptrice ponctuelle (190 μm et 114 μm pour les cartes type *A* et *B* respectivement) est compensé en considérant l'approximation de champ lointain (équation 2.27). On observe pour $k_3R < 1$ (i.e. $R < 4 \mu\text{m}$) que la Puissance Relative Rétrodiffusée (*PRD*) augmente rapidement selon un comportement de type Rayleigh. Ce comportement est identique à celui de particules homogènes comme le prédit le modèle de Faran (équations 2.28 et 2.29). Pour $k_3R > 1$ (i.e. $R > 10 \mu\text{m}$) la *PRD* sature à -18 dB .

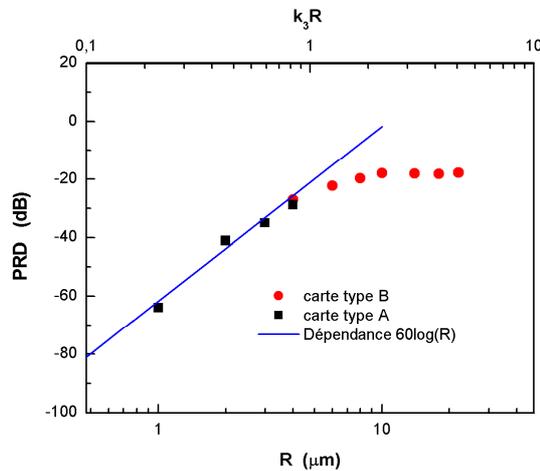


Figure 5.7. Variation de la Puissance Relative Diffusée à $\theta = \pi$ (*PRD*) en fonction du rayon de l'ACU, pour deux types de carte (voir texte). La droite (en bleue) représente une variation du type Rayleigh, valide si $k_3R < 1$. La variation du paramètre k_3R est indiquée sur l'axe horizontal supérieur.

Pour comprendre le comportement observé, nous avons appliqué le modèle d'Hasegawa pour un disque d'ACU. Un exemple est montré sur la figure 5.8 pour un ACU ayant un rapport $T/R = 0,35$. Sur la même figure sont représentés les comportements d'une particule homogène de

PFOB et de PLGA obtenus par le modèle de Faran. Nous avons vérifié que le modèle d'Hasegawa donne un résultat identique au modèle de Faran lorsque T/R tend vers 0 (cas d'une particule de PFOB) ou 1 (cas d'une particule de PLGA). Nous observons que les résultats des simulations prédisent un comportement général similaire aux modèles de Faran et d'Hasegawa.

L'ensemble des résultats démontrent que pour $k_3R < 1$, le comportement d'une particule obéit à un comportement du type Rayleigh quelque soit sa structure (homogène ou ACU).

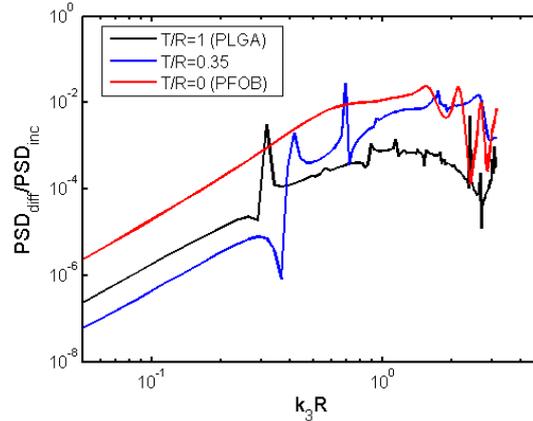


Figure 5.8: Puissance spectrale rétrodiffusée en fonction du paramètre k_3R . Les lignes rouge et noire sont calculées par le modèle de Faran et correspondent respectivement à un disque homogène de PFOB et de PLGA. En bleu est représenté le modèle d'Hasegawa pour un disque d'ACU avec $T/R = 0,35$.

5.3.2 Variation du rapport d'épaisseur T/R

Dans cette partie le rayon du disque est maintenu constant et l'épaisseur de la coque est modifiée pour que le rapport T/R varie entre 0 (cas extrême d'un disque homogène de PFOB) et 1 (cas extrême d'un disque de PLGA). Les signaux rétrodiffusés pour ces deux cas extrêmes sont montrés sur la figure 5.9 pour $k_3R = 0,628$ et $2,094$, correspondant à des rayons de 3 et 10 μm respectivement. On rappelle que le cas $R = 10 \mu\text{m}$ se trouve au-delà de la limite de Rayleigh.

On observe sur la figure 5.9 des échos secondaires régulièrement espacés pour le disque de PFOB de $R = 10 \mu\text{m}$, ce qui laisse envisager qu'il s'agisse d'un phénomène lié à la taille ainsi qu'à la composition du disque. Le calcul du temps de parcours des possibles réflexions internes conduit à une valeur de $4R/c_{PFOB} = 0,065 \mu\text{s}$, compatible avec le décalage de $0,04 \mu\text{s}$ (premier passage par zéro) observé entre l'écho principal et l'écho secondaire⁵. Il est aussi remarquable

⁵ Le calcul est valide si la durée de l'impulsion = $N_{\text{cycles}}/\text{fréquence} = 0,04 \mu\text{s} \geq 4R/c_{\text{part}} \Rightarrow R \leq 0,01 \times c_{\text{part}}$.

- Pour le PLGA : $R \leq 0,02 \text{ mm} = 20 \mu\text{m}$
- Pour le PFOB : $R \leq 0,01 \text{ mm} \times 0,6 = 6 \mu\text{m}$

Alors, les échos vont être bien séparés pour les disques homogènes de PLGA de $R < 20 \mu\text{m}$ et de PFOB de $R < 6 \mu\text{m}$. Le calcul des coefficients de réflexion et de transmission reste simple, car pour chaque

d'observer que l'amplitude du premier écho secondaire est plus importante que l'amplitude de l'écho rétrodiffusé principal, effet déjà observé sur la figure 5.4.

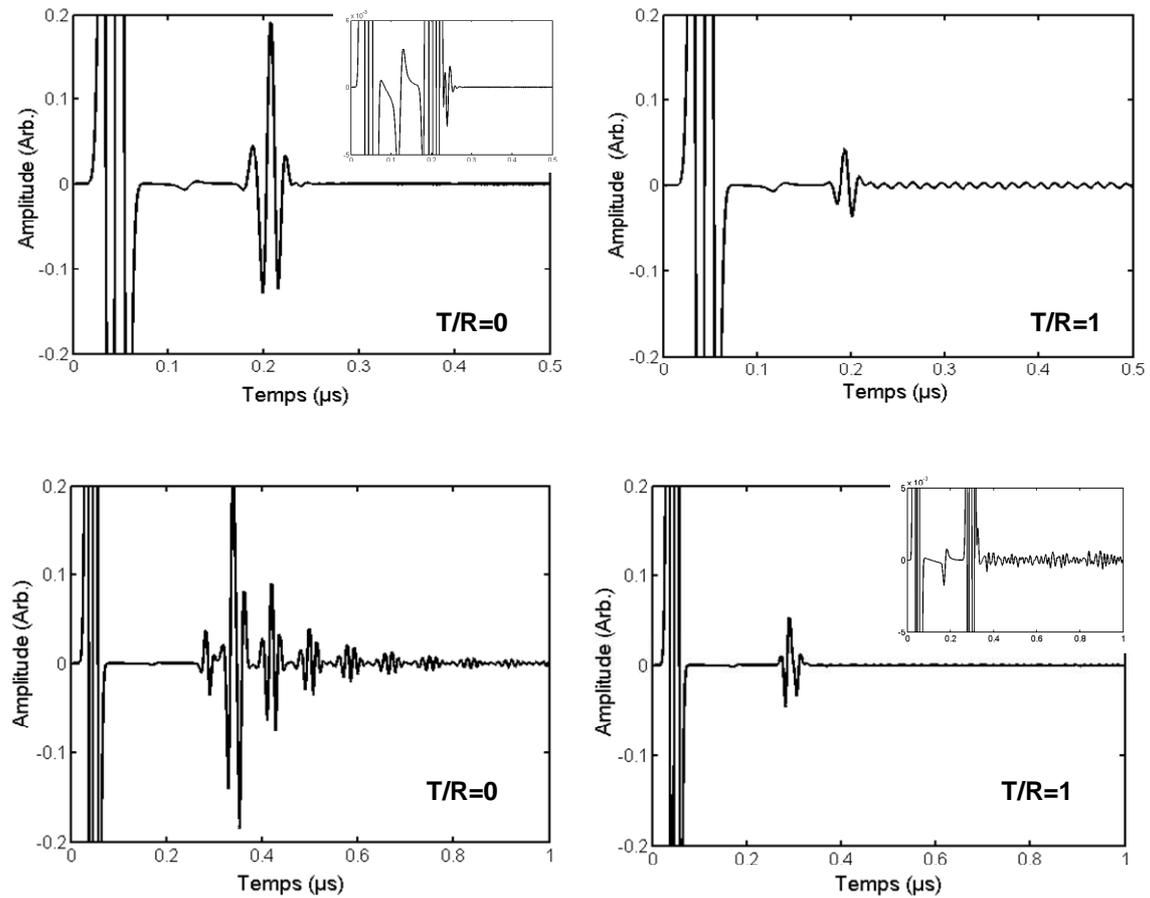


Figure 5.9 : En haut (en bas) signal rétrodiffusé par un disque de 3 μm (10 μm) de rayon. A gauche : $T/R=0$ (PFOB seul). A droite $T/R=1$ (PLGA seul) Une amplification du signal rétrodiffusé par la particule de PFOB de 3 μm et celle de PLGA de 10 μm est placée en insert dans chaque figure pour montrer ainsi les phénomènes d'interférence des possibles échos secondaires.

Pour les disques de PLGA homogènes (i.e. $T/R=1$) de 3 et 10 μm de rayon, on observe des signaux résiduels probablement liés aux phénomènes d'interférence destructive entre les échos rétrodiffusés secondaires.

interface il ne faut considérer que les onde incidentes, transmises et réfléchies (voir l'annexe 3 pour plus de détails).

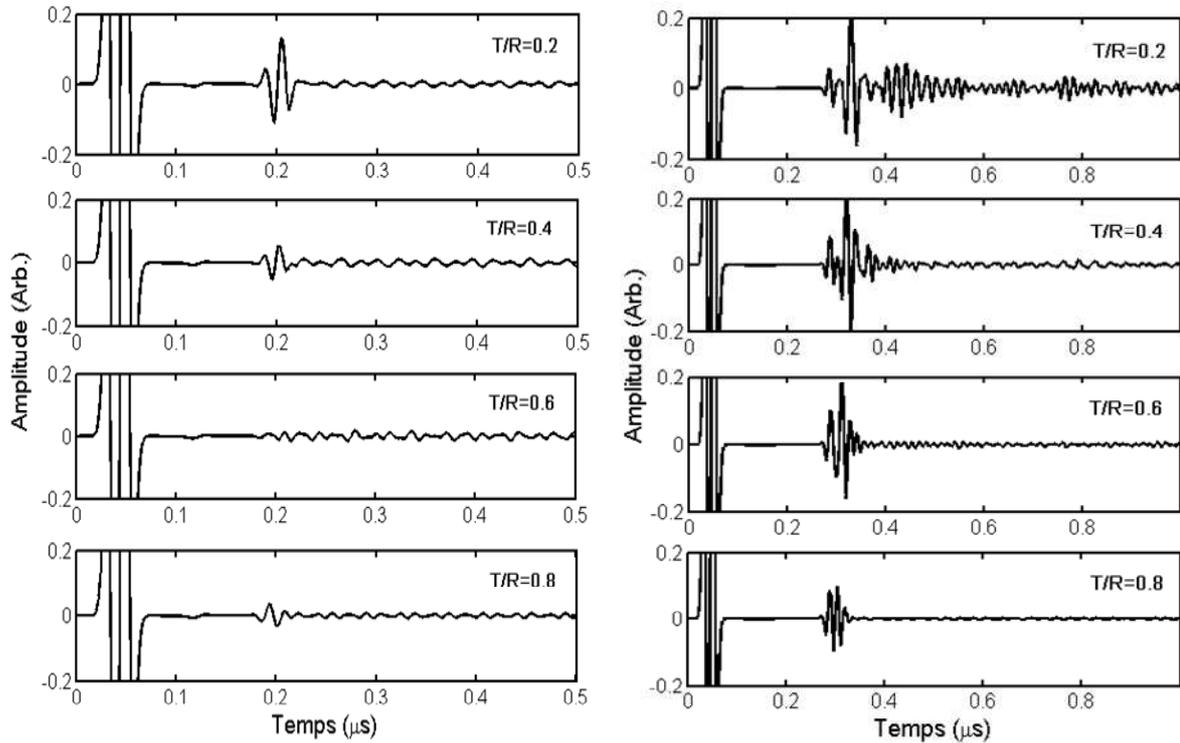


Figure 5.10 : Signal rétrodiffusé par un disque d'ACU de $R = 3 \mu\text{m}$ (à gauche) et $R = 10 \mu\text{m}$ (à droite). Variation du paramètre d'épaisseur de la capsule de PLGA de $T/R = 0,2$ à $0,8$.

L'évolution de la forme des signaux rétrodiffusés avec l'épaisseur de la capsule de PLGA est illustrée dans la figure 5.10. Pour un disque de $R = 3 \mu\text{m}$ (à gauche), on observe d'abord une diminution de l'amplitude de l'écho rétrodiffusé principal, puis une quasi extinction pour $T/R = 0,6$ pour finir par une augmentation pour atteindre l'amplitude du signal rétrodiffusé d'un disque de PLGA (figure 5.9).

Pour le disque de $R = 10 \mu\text{m}$ (à droite), on observe que les échos rétrodiffusés secondaires se rapprochent et finissent par interférer. L'extinction de ces échos est clairement observée à partir de $T/R = 0,4$, sauf pour le premier écho qui reste presque inaltérable jusqu'à $T/R = 0,8$.

La figure 5.11 présente les spectres de puissance du signal rétrodiffusé dans la bande passante de 30 à 75 MHz, normalisés par le spectre de puissance du signal incident, pour différentes épaisseurs de capsule (paramètre T/R), pour les deux tailles de disques $R = 3$ et $10 \mu\text{m}$.

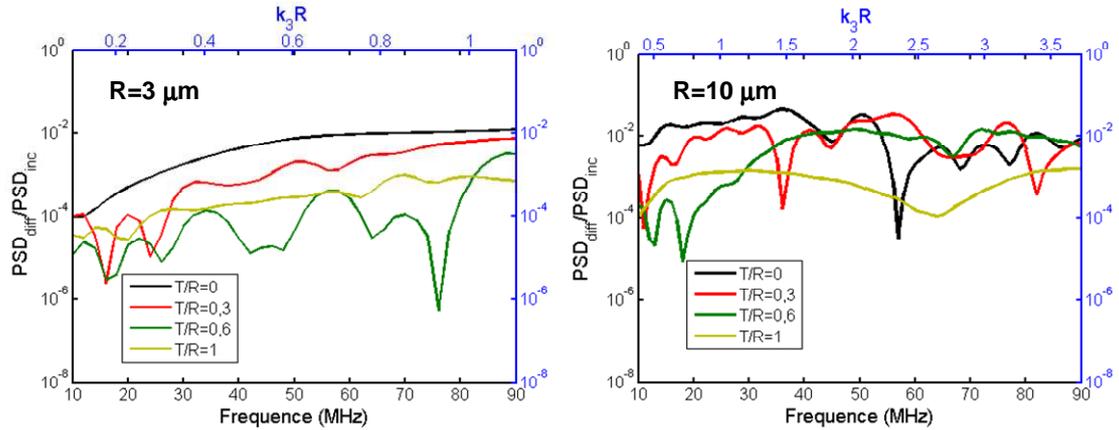


Figure 5.11 : Spectres de puissance du signal rétrodiffusé par un disque d'ACU (PFOB/PLGA) de 3 et 10 μm de rayon, pour différentes valeurs du paramètre d'épaisseur T/R .

Pour le disque de $R = 3 \mu\text{m}$, on observe une diminution graduelle de la puissance rétrodiffusée, à mesure que l'épaisseur de la capsule croît de $T/R = 0$ à 0,6, phénomène qui est compatible avec l'observation de la figure 5.10. Pour $T/R = 0,6$, on observe de fortes variations de la puissance diffusée avec diminutions d'un facteur 100 pour les fréquences comprises entre 40 et 50 MHz et entre 60 et 75 MHz. Pour $T/R = 1$ (PLGA), ces variations disparaissent.

Pour le disque de $R = 10 \mu\text{m}$, et dans la même bande passante, on observe que pour une épaisseur correspondant à un rapport compris entre $T/R = 0$ et 0,6, la puissance rétrodiffusée reste presque inaltérable, sauf pour la présence de certains pics situés aux alentours de 60 MHz pour $T/R = 0$ et de 35 MHz pour $T/R = 0,3$. Par contre, pour le disque de PLGA ($T/R = 1$), on observe une diminution de plus d'un facteur 10, surtout pour les fréquences proches de 65 MHz.

Similairement à l'effet de la taille, la variation de l'épaisseur de la capsule de PLGA affecte aussi la réponse en fréquence de ces disques. En conséquence, on peut avoir un effet combiné entre la dépendance des paramètres k_3R et k_3T .

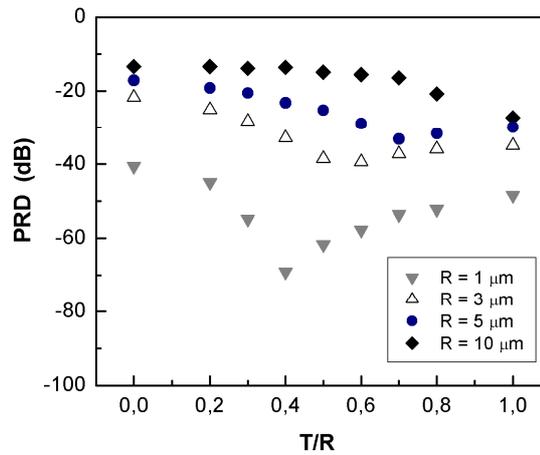


Figure 5.12. Variation de la Puissance Relative Diffusée en fonction du paramètre d'épaisseur T/R , pour des disques d'ACU de différents rayons.

Les variations de la Puissance Relative Diffusée sont présentées dans la figure 5.12. Pour un disque de $R = 10 \mu\text{m}$, ($k_3R = 2,094$) la valeur initiale de -18 dB à $T/R = 0$ reste pratiquement constante jusqu'à $T/R < 0,4$. Puis la PRD diminue jusqu'à -32 dB pour un disque plein de $PLGA$.

A mesure que le rayon R du disque diminue, on observe un changement dans le comportement de la PRD : la PRD diminue jusqu'à un rapport T/R critique, puis augmente au-delà. L'amplitude de ces variations est d'autant plus importante que le rayon du disque est petit. Le rapport critique diminue également lorsque le rayon R diminue.

Toutefois, on constate une différence moyenne de l'ordre d'environ 14 dB entre un disque plein de $PFOB$ et de $PLGA$ quelque soit le rayon du disque.

A partir de cette étude de l'épaisseur des microparticules, l'échogénicité doit être plus importante que celles utilisées par Lanza et al. (chapitre 1).

5.3.3 Influence de la masse volumique du PLGA.

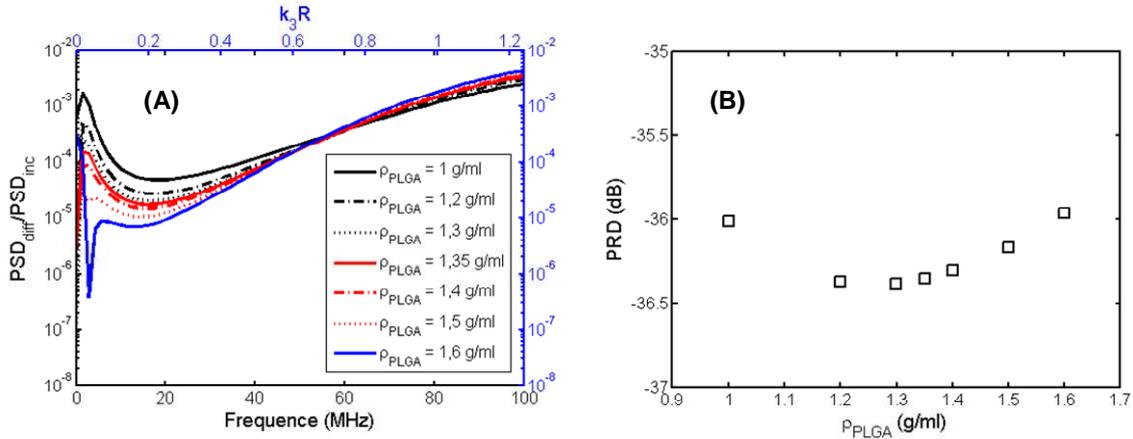


Figure 5.13. Variation de la puissance rétrodiffusée en fonction de la masse volumique du PLGA, obtenue à partir des simulations numériques. ACU isolée de 3 mm de rayon avec une capsule de $T = 1,05 \mu\text{m}$ ($T/R = 0,35$). (A) Spectres de puissance normalisée. (B) Puissance Relative Diffusée intégrée sur la bande passante prise à -3 dB .

Dans la littérature, on trouve des mesures de masse volumique pour le PLGA (50/50) de l'ordre de $1,35 \text{ g/cm}^3$ [6]. Cette masse volumique varie si on change le rapport d'acide lactique sur l'acide glycolique. Pour évaluer l'influence de ce rapport sur la PRD, nous avons étudié l'effet de la variation de la masse volumique de la capsule de PLGA pour un ACU de $3 \mu\text{m}$ de rayon (on utilise donc une carte de type B) et d'un rapport de $T/R = 0,35$. La variation de la masse volumique est comprise entre 1 et $1,6 \text{ g/cm}^3$. La valeur du module de compressibilité est fixée à $B_{PLGA} = 4 \text{ GPa}$. La figure 5.13(A) présente la puissance spectrale du signal rétrodiffusé normalisée. On observe que lorsque l'on s'approche de la fréquence centrale, les courbes se rapprochent et tendent à se croiser. Ainsi, on ne s'attend pas avoir un effet notable de la masse volumique du PLGA sur la puissance rétrodiffusée. En fait, sur la figure 5.13(B) où est reportée la Puissance Relative Diffusée à $\theta = \pi$ (PRD) en fonction de la masse volumique, les valeurs varient faiblement, et la valeur minimale est obtenue entre 1,2 et $1,3 \text{ g/cm}^3$.

5.3.4 Influence de la compressibilité du PLGA

Nous présentons ici l'effet d'une variation du module de compressibilité pour le même type de particule d'ACU ($R = 3 \mu\text{m}$; $k_3R = 0,628$ et $T/R = 0,35$) obtenu en utilisant le même type de carte. La masse volumique du PLGA est fixée aux valeurs : 1, 1,35 et $1,5 \text{ g/cm}^3$, et la vitesse longitudinale est variée entre 1600 et 2600 m/s, ce qui équivaut à produire des variations de B_{PLGA} entre 2,5 et 10 GPa (figure 5.14). Le coefficient de Poisson est fixé à 0,49. Pour les trois

[6] K. P. Andriano, Y. Tabata, Y. Ikada, J. Heller. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 48, 602-612, 1999.

valeurs de la masse volumique, la PRD diminue à mesure que le module de compressibilité augmente, avec une différence entre la valeur maximale et la minimale de l'ordre de 3 dB.

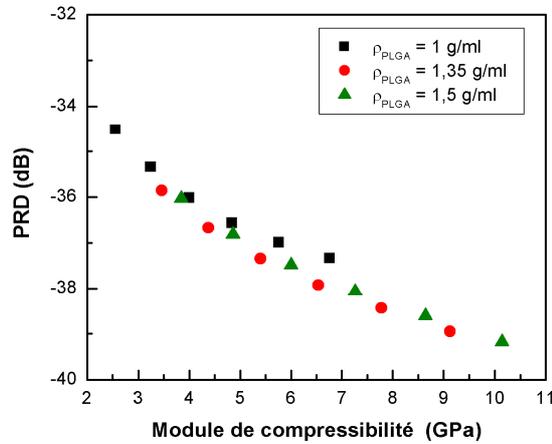


Figure 5.14. Variation de la PRD en fonction du module de compressibilité de la capsule PLGA pour un disque de ACU de $3 \mu\text{m}$ de rayon avec une capsule de $T = 1,05 \mu\text{m}$ ($T/R = 0,35$).

Si on compare les résultats des simulations au modèle d'Hasegawa (Figure 5.15), on observe que les pics de résonance dans la courbe obtenue par le modèle d'Hasegawa ne se retrouvent pas dans les simulations. Comme ce fut le cas pour les particules homogènes avec le modèle de Faran, ici le pas de discrétisation des simulations n'est pas suffisamment fin pour observer ces pics. Cependant le comportement général est très proche dans la bande passante de 30 à 75 MHz.

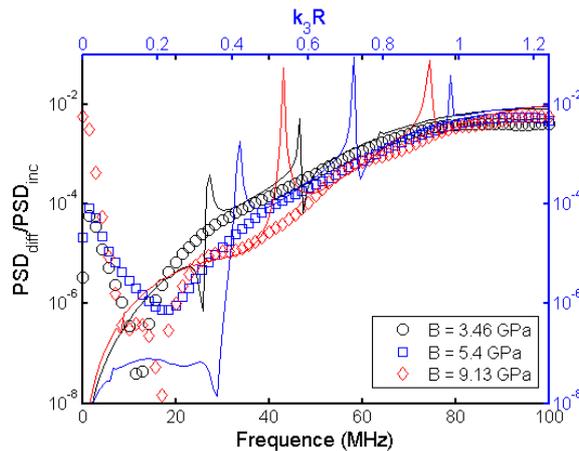


Figure 5.15 : Puissance rétrodiffusée en fonction du module de compressibilité de la capsule PLGA disque de ACU de $3 \mu\text{m}$ de rayon avec une capsule de $T = 1,05 \mu\text{m}$ ($T/R = 0,35$). Simulation numérique SimSonic (symboles). Modèle de Hasegawa (lignes continues)

5.4 Conclusion

L'analyse des résultats de l'effet de taille montre que le comportement de type Rayleigh prédit pour les particules homogènes est conservé dans le cas de disques d'ACU de rayons inférieurs à 4 μm et un paramètre d'épaisseur de $T/R = 0,35$. On peut conclure, à partir de ces résultats, que pour augmenter le rehaussement de contraste il n'est pas utile d'employer des particules de rayons supérieurs à 4 μm . L'étude de l'effet de l'épaisseur de la capsule de PLGA indique un minimum de plus de 10 dB par rapport au rehaussement du disque de PFOB pour les disques de rayons inférieurs à 5 μm (figure 5.12). Ainsi, la fabrication des particules devrait être faite en utilisant des capsules les plus minces possibles pour ainsi éviter ce minimum et être à la fois le plus proche du comportement prédit pour les particules de PFOB. Finalement, sur l'effet des propriétés physiques de la capsule, $T/R = 0,35$, on observe que seule une variation significative de la rigidité (de plus de 50 %) peut produire des effets notables sur la puissance rétrodiffusée.

5.5 Une distribution aléatoire d'ACU

Nous avons vu dans les paragraphes précédents que nos simulations permettent de prédire correctement le signal rétrodiffusé par un disque homogène ou une particule d'ACU. Dans ce chapitre, nous appliquons ces simulations pour des distributions de disques d'ACU. Il n'existe pas de modèle analytique qui permet de prédire le comportement d'une population d'ACU, cependant nous comparerons les résultats des simulations à des mesures expérimentales effectuées sur des solutions d'ACU.

Les simulations par différences finies permettent d'estimer la réponse ultrasonore d'une solution d'ACU en se basant sur les propriétés physico-chimiques des matériaux constituant les produits de contraste en solution.

Le modèle utilisé comporte des limitations sur la modélisation des variations de volume, des phénomènes de dispersion ou de conversion de mode, de la présence de différentes ondes de surface.... Néanmoins, ce travail constitue une première approche encourageante pour une meilleure compréhension des éléments physiques déterminants qui influencent la propagation des ultrasons dans des ACU en suspension.

Ces simulations doivent aider les fabricants d'ACU à obtenir des particules plus efficaces et d'établir un lien entre la réponse ultrasonore et les propriétés physiques des ACU en solution. Les résultats de ces travaux sont présentés dans l'article⁷ ci-après.

⁷ Cet article a été soumis à *J. Acoust. Soc.* Il est actuellement en révision favorable.

Numerical simulation of high frequency wave propagation in ultrasound contrast agent solution

Belfor Galaz^{1,2,3}, Guillaume Haïat⁴, Romain Berti^{1,2}, Nicolas Taulier^{1,2}, Jean-Jacques Amman³ and Wladimir Urbach^{1,2,5}

¹ UPMC Univ Paris 6, Laboratoire d'Imagerie Paramétrique, UMR 7623, 75006 Paris, France

² CNRS, LIP, UMR 7623, 75006 Paris, France

³ Universidad de Santiago de Chile (USACH), Department of Physics, Ecuador 3493, Santiago, Chile

⁴ CNRS, Université Paris 7, Laboratoire de Recherches Orthopédiques, UMR CNRS 7052 B2OA, 10 avenue de Verdun, 75010 Paris, France

⁵ Laboratoire de Physique Statistique, École Normale Supérieure de Paris, CNRS UMR 8550, 24 rue Lhomond, 75005 Paris.

Corresponding Author: Guillaume Haïat

Abstract

The propagation of high frequency acoustic waves in solutions of Ultrasound Contrast Agents (UCA) remains unclear due to the complex interaction between ultrasound and this complex medium. In order to explore the sensitivity of the ultrasonic parameters to various physical parameters (concentration, membrane thickness and material properties of the membrane) of UCA, we performed, at 50 MHz, two-dimensional Finite Difference Time Domain numerical simulations of ultrasound transmission and reflection in a distribution of microparticles mimicking UCA. The speed of sound, attenuation coefficient (α) and relative backscattered intensity (I_b) were extracted from our simulations. We first compared the results obtained with a single and a distribution of homogenous polymeric microparticles with the values that are derived from the analytical model of Faran and experimentally measured, respectively. The good agreement achieved between these different values validated our approach. We extended the simulations to model ACU composed of a liquid perfluorocarbon core surrounded by a polymeric capsule. When the capsule thickness increases, our simulations predict that α decreases whereas I_b decreases (respectively increases) for thin ($< 1 \mu\text{m}$) (respectively thick, $> 1 \mu\text{m}$) thickness. The influence of the capsule material properties is investigated by varying in the simulation the values of longitudinal and transverse wave in the material. When the longitudinal (respectively transverse) wave velocity in the capsule increases, α decreases (respectively increases), we observed that the behavior of the ultrasonic velocity is well predicted by an effective medium model. The behavior of α and I_b can be interpreted in terms of mode conversion and multiple scattering effects.

Keywords: Ultrasound contrast agent, high frequency, FDTD simulation, coated particles, scattering

I. Introduction

Recent advances in ultrasound imaging are due to broadband transducers and increased scanner bandwidth, resulting in higher axial resolution and allowing shifting to higher center frequencies. Higher lateral resolution is achieved and increased sophistication of signal processing routines may be employed, which allows better images with higher contrast. As in other imaging techniques, the use of ultrasonic contrast agents (UCA) is opening new diagnostic opportunities [1]. Those agents improve the image quality by increasing the backscattered echoes from the desired regions up to 25 dB. Recently *in vivo* use of UCA at frequencies above 20 MHz, has been suggested [2, 3] for different applications involving microcirculation, ophthalmic disease diagnosis and small animal imaging [4, 5]. The use of high frequency provides near-microscopic resolution for studies of development [6], atherosclerosis, tumor growth or angiogenesis [7] and drug effects [8].

To pass through the lung capillaries and enter into the systemic circulation, microbubbles as a vascular contrast agent should be less than 10 μm in diameter. Stability and persistence are major concerns for such small microbubbles. Most vascular contrast agents are stabilized against dissolution and coalescence by the presence of additional materials at the gas-liquid interface. In some cases, this material is an elastic shell that enhances stability. In other cases, the material is a lipid, or a combination of two or more lipids. Moreover, newer agents use perfluorocarbon gases instead of air because of their low solubility in blood and high vapor pressure. Thanks to this substitution the stability and plasma longevity of the agents have been markedly improved, usually lasting more than five minutes.

New clinical possibilities arise from tissue-specific ultrasound contrast agents, taken up by specific tissues, such as the reticuloendothelial system [9], or adhere to specific sites such as venous thrombosis [10]. These effects may require several minutes to several hours to reach maximum effectiveness.

For that reason, a new generation of stable contrast agents has become available [11, 12] designed for therapeutic applications, such as drug delivery or gene transfer. They are composed of a poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) polymeric capsule with a liquid Perfluorooctylbromide (PFOB) core.

Despite promising uses of UCA in clinical practice the acoustical behavior of UCA suspension still remains unclear, owing to the complexity of the involved modeling. This is unfortunate as the understanding of ultrasound propagation in UCA solutions is of great importance in the design and optimization of UCA for clinical use. To describe the interaction between a single isolated UCA and an ultrasound wave, most models use as a basis the Rayleigh-Plesset equation [13]. Other models are based on the computation of the scattering cross-section of each independent particle [14] and some of them allow the calculation of the acoustic radiation pressure on a coated particle [15]. Discrepancies between measurements and predictions from single microbubble theories have been continuously observed, and multiple scattering phenomena have been evoked [16] to explain these differences.

So far, time domain numerical simulation tools have not been applied to model ultrasound propagation in such complex heterogeneous medium. A potential advantage of a numerical approach is its ability to solve complex problems that can become rapidly intractable when following analytical approaches. Another advantage of such approaches over

multiple scattering theories, which have been developed for homogeneous [17] as well as coated particles [16, 18, 19], is that it allows simulating *rf* signals in the time domain, avoiding hazardous reconstructions from the frequency domain.

The aim of this investigation is to examine the problem of wave propagation at high frequency (50 MHz) in UCA suspensions using two-dimensional Finite Difference Time Domain (2-D FDTD) numerical simulation tools. The main advantage of our numerical method is to deal with large population of UCA particles which allows to simulate multiple scattering effects which have been shown to occur in such medium [16, 20, 21]. We aim at estimating the physical determinants of the ultrasonic response of a UCA solution as well as the sensitivity of the ultrasonic parameters to the physical properties of the UCA suspension.

II Materials and Methods

A. Two-dimensional numerical modeling.

2-D numerical simulations of ultrasonic wave propagation through randomly distributed microparticles solutions were performed using SimSonic, a Finite-Difference Time-Domain (FDTD) simulation software. This software has been developed by the Laboratoire d'Imagerie Paramétrique and its description and validation can be found elsewhere [22-25]. Briefly, it uses an algorithm based on the spatial and temporal discretization of two coupled first-order equations [22], that describes a 2-D linear elastic wave propagation. The discretization is performed following the de Virieux [26, 27] resolution scheme with a time step which is automatically deduced from the required stability condition. The main assumption of the model is that all absorption phenomena

are neglected. However, the model fully takes into account all reflection and refraction effects as well as mode conversions.

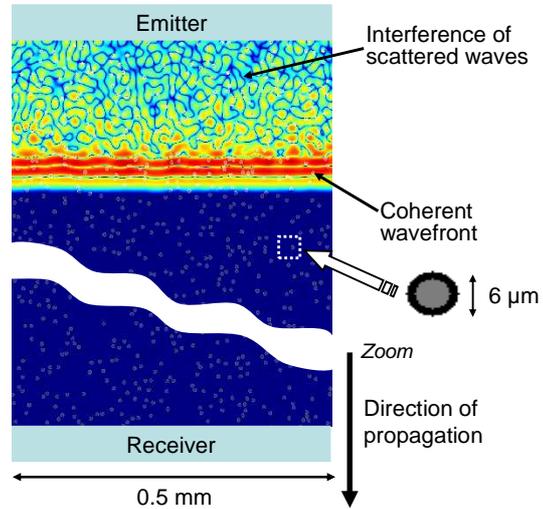


Figure 1: Image illustrating the simulation of the ultrasonic propagation in a solution of UCA. In the upper part of the Figure, the color codes the amplitude of the displacement as a function of position at a given time. The coherent wavefront may be distinguished below the complicated wave field corresponding to interference of waves scattered by the particles. In the lower part, the Figure displays the random distribution of the particles. On the right handside, an isolated particle is shown where black and grey pixels correspond respectively to elastic PLGA, and liquid PFOB.

The ultrasonic propagation is simulated in a 0.5 x 1 mm rectangular domain, as shown in Fig. 1. The longest length is along the y-axis, which is also the direction of the propagation. A linear ultrasound pressure source of 0.5 mm length located at $y = 0$ emits a broadband pressure pulse shown in black in Fig. 2(a), with a center frequency equal to 50 MHz (bandwidth 35 to 62 MHz at -3 dB). To ensure plane wave propagation, symmetric boundary conditions are applied to the box sides located at $x = 0$ and 0.5 mm, parallel to the y axis. In order to avoid unphysical reflections due to the boundaries of the simulation mesh perfectly matched layers [28] are positioned at $y = 0$ and 1 mm.

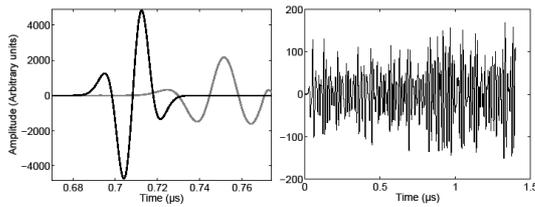


Figure 2: Typical simulated rf signals (a): The signal in water (in black) is identical in shape to the signal generated by the emitter (data not shown). In grey: the rf signal transmitted in an Ultrasound Contrast Agent solution. The particle concentration is $C = 60.4$ mg/ml. Each particle is surrounded by a PLGA_R capsule (see Table 1). The capsule thickness to microsphere radius ratio $T/R = 0.35$. The value of the corresponding velocity is equal to 1432 m/s. (b): Backscattered rf signal by the same UCA solution. The corresponding value of the attenuation coefficient at 50 MHz (respectively relative backscattering intensity) is equal to 74.2 dB/cm (respectively -22.1 dB).

Two linear receivers located respectively at $y = 0$ and 1 mm, provide both backscattered and transmitted signals through a spatial average of the displacement over the entire transducers length (i.e. 0.5 mm). The chosen pixel size is equal to 0.25 μm , which is a compromise between an acceptable spatial resolution and a reasonable computational time. We have checked that slight variations of pixel size (between 0.2 and 0.3 μm) do not significantly modify the results.

An iterative probabilistic procedure was used to randomly insert N identical particles in the two-dimensional blank domain. During this procedure, the insertion of a particle is accepted only if the surface area of the particle is entirely included within the domain and if the particle surface area does not intercept the surface area of another previously inserted particle. If these conditions are not fulfilled, another location is then randomly selected. This process is iterated until N particles are finally inserted in the domain.

We use this procedure to insert two types of disk. The first one has the properties of homogeneous polystyrene microparticles. The second type mimics UCA particles composed of an inner

circular region of radius P , whose material properties are that of liquid PFOB, surrounded by a capsule. The capsule properties are similar to PLGA polymer and its thickness is denoted T . The external radius R of all particles is identical and equal to 6 μm , so that $P + T = R = 6$ μm . Figure 1 shows a typical example obtained by this procedure, where white zones correspond to water, black zones to PLGA capsule, and grey zones to PFOB core. Figure 1 also shows an image corresponding to the ultrasonic propagation in this heterogeneous medium where the color codes the amplitude of the displacement.

FDTD simulations require as input parameters mass densities and stiffness coefficients of all materials used in the simulation: the mechanical behavior of water and PFOB is that of liquid and PLGA is considered to have an isotropic solid elastic behavior. One major difficulty is to find the most accurate parameters since they will influence the quality of the simulation predictions. The densities of PFOB and PLGA have been measured using a densimeter (model DMA 58, Anton Paar, Austria) and are in agreement with the literature [29, 30]. The sound celerity in PFOB and the longitudinal velocity in PLGA were measured by classical time of flight techniques. Data concerning the Poisson's ratio and the transverse wave velocity in PLGA could not be found in the literature. As a first estimation, we choose a Poisson's ratio equal to 0.4, which is a typical value for most polymers [31] and used this value to derive the transverse wave velocity of PLGA. These estimated values will be referred hereafter as "reference" material properties. Later, we will vary these material properties to explore their influence on ultrasound properties of UCA solutions. The characteristics of all materials are summarized in Table 1.

	Material properties			Sound velocity	
	ρ g/ml	C_{11} GPa	C_{33} GPa	V_L m/s	V_T m/s
Water	1	2.25	-----	1500	-----
PFOB	1.935	1.0884	-----	750	-----
PLGA _R Reference	1.35	4	0.664	1721	701
PLGA _L 10% change in $V_{L,PLGAR}$	1.35	4.84	0.664	1893	701
PLGA _T 10% change in $V_{T,PLGAR}$	1.35	4	0.806	1721	773
Polystyrene	1.05	4.2	1.4086	2000	1158

Table 1: Density, ρ , stiffness coefficients, C_{ii} , and corresponding wave propagation velocities, V_L and V_T , of materials of interest. For *PLGA* the first line corresponds to the reference set (see text). For latex microspheres the V_T value was adjusted in order to fit experimental data. Its value is 20% larger than the literature values [37, 38] reported for a pure slab of this polymer.

B. Experimental measurements.

Measurements were performed in solutions of microspheres of 5.4 μm diameter made of latex polystyrene (Corpuscular Inc., NY, USA). The solution was stabilized at 25.0 ± 0.1 °C using an external control temperature system. The ultrasonic pulses were generated by transducers coupled with a 33250A Agilent pulse generator (Santa Clara, CA, USA). The emitted and received signals were digitalized at a frequency of 200 MHz by an Lecroy oscilloscope (Chestnut Ridge, New York).

Backscattering measurements were performed using a cylindrical aluminum cell filled with 1.6 ml of microsphere solution. A PVC (PolyVinyl Chloride) film is placed on top of the solution to hermitically separate it from water added on top of the film. Agitation was maintained inside the solution thanks to a small off-centered stirring bar. A 50 MHz Panametrics transducer (15.8 mm focal

length and a lateral resolution of 0.9 mm at the focal point) was immersed in water and focused in the polystyrene solution, at approximately 3 mm below the PVC film to avoid any contribution coming from the film. A series of sinusoidal pulses of 0.2 μs were emitted every 10 ms. Signals diffused by microspheres in solution were collected by the same transducer which lead to the backscattering measurements.

Classical transmission measurements were performed to measure attenuation and ultrasonic velocity. A time of flight method [32] was used to obtain the ultrasonic velocity. The emitter and receiver were coaxially aligned and operated in transmission. They were immersed in the microsphere solution and separated by a distance of 1 cm. The travel time was estimated using the zero crossing method and by performing an average over one hundred signals. Knowing the distance between the two transducers from preliminary measurements (using a solution of precisely known sound celerity), the speed of sound was estimated with a precision better than 0.1 m/s.

C. Comparison between numerical approach and experiment.

In order to compare simulations with experiments, a 2-D concentration equivalent to the experimental one needed to be determined. We chose a method based on the mean distance between a particle and its closest neighbor since it is a meaningful parameter in two and three dimensions. For N randomly distributed particles within an infinitely large 2-D domain of surface area S , the mean distance D_2 between the center of one particle and the center of its closest neighbor is given by:

$$D_2 = \sqrt{\frac{S}{N}} \quad (1)$$

In the case of a 3-D distribution the inter-particle distance writes:

$$D_3 = \sqrt[3]{\frac{M}{C}}, \quad (2)$$

where M is the mass of a particle and C is the particle concentration in UCA solution (in mg/ml). The assumption used herein is that the distance between two particles must be the same in two and three dimensions, *i.e.* $D_2 = D_3$. This leads to the following relation between N and C :

$$C = M \left(\frac{N}{S} \right)^{3/2}. \quad (3)$$

D. Determination of the ultrasonic parameters

Basic signal processing techniques were applied to the simulated and experimental *rf* signals to retrieve the ultrasound properties of the 2-D domain [33]. Three parameters were extracted from the simulations and experimental measurement: the speed of sound, V , the attenuation coefficient, $\alpha(f)$, and the apparent backscattered coefficient, $ABC(f)$.

Since in simulations the absorption is neglected, the attenuation *in silico* is only due to the scattering and the corresponding $\alpha(f)$ value, in dB, is [34]:

$$\alpha(f) = \frac{20}{L} \log \left(\frac{S_{ref}(f)}{S_{UCA}(f)} \right), \quad (4)$$

where L is the path length of sound propagation. In UCA solution $L \sim 6.5$ mm and $L = 1$ mm *in silico*. $S_{ref}(f)$ and $S_{sol}(f)$ are respectively the Power Spectrum Densities (*PSD*) of the signal transmitted in water and in the solution, obtained using a fast Fourier transform.

The Apparent Backscattered Coefficient $ABC(f)$, expressed in dB, writes [35]:

$$ABC(f) = 20 \log \left(\frac{S_b(f)}{S_{ref}(f)} \right), \quad (5)$$

where $S_b(f)$ is the *PSD* of the backscattered signal recorded by the transducer located at $y = 0$. The relative backscattered intensity I_B is then given by

the mean value of the apparent backscattered coefficient in the frequency bandwidth of interest (35 - 62 MHz). The experimental precision on $\alpha(f)$ and I_B is equal respectively to 4 dB/cm and 1 dB.

III. Results & Discussion

A. Homogenous particles.

In order to validate our approach in the framework of UCA suspensions, we first have carried out simulations on a 2-D domain containing a single homogenous disk made of PLGA polymer. This kind of system has been analytically solved by Faran [36] for any angle of observation and of incidence.

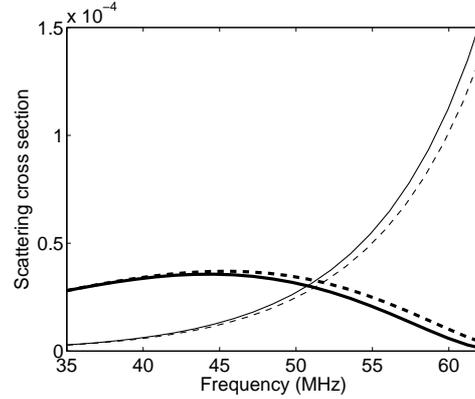


Figure 3: Scattering cross section obtained with the Faran model (dashed lines) and the numerical simulation (solid lines) at angles of 180° (thick lines) and 90° (thin lines) from the incident beam.

Figure 3 shows the comparison between the scattering cross-section (at 180° and 90°) obtained i) with the analytical Faran model applied to a lossless solid cylinder immersed in water and ii) by computing the amplitude ratio of the Finite Difference Time Domain numerically simulated spectra of the scattered signal to the incident signal. We observe a fair agreement between both approaches. The slight discrepancy between results, which increases up to 12 % as the frequency reaches 60 MHz could be due to the (constant) spatial discretisation ($0.25 \mu\text{m}$) used in the

simulation code, the scatterers being not strictly circular, as shown in Fig. 1.

Since the simulation code predicts reasonably well the ultrasound properties of a single polymer homogenous disk, our investigation was extended to the case of a distribution of homogenous polymer disks. For this case, to the best of our knowledge, there is no analytical model available, so we confronted our simulations results with experimental values measured on solutions of polystyrene microparticles of the same diameter.

We could not measure the transverse and longitudinal speeds of sound in our polystyrene spheres, thus we started our simulations with values for polystyrene found in the literature [37, 38]. Then, we made the longitudinal velocity in polystyrene ($V_{L,PS}$) vary in order to better fit our experimental data. Best agreement was achieved for a value of $V_{L,PS}$ 20% lower than the value found in the literature. In consequence, all simulations were performed with $V_{L,PS} = 2000$ m/s and $V_{T,PS} = 1158$ m/s.

Ultrasonic attenuation results from a combination of scattering and absorption phenomena. The complete characterization of absorption requires the knowledge of a large number of thermo-physical parameters that are in practice hard to quantify. That is why we do not account below for absorption in the simulation. Even so, the agreement between simulated and measured values of the attenuation coefficient at 50 MHz shown in Fig. 4(a) is quite good.

A modified backscattered intensity was defined since there is no noise present in our simulations. We added 38.5 dB to the computed relative backscattered intensity, so that the extrapolated value at zero concentration in micro spheres falls down to zero, as shown in Fig 4(b).

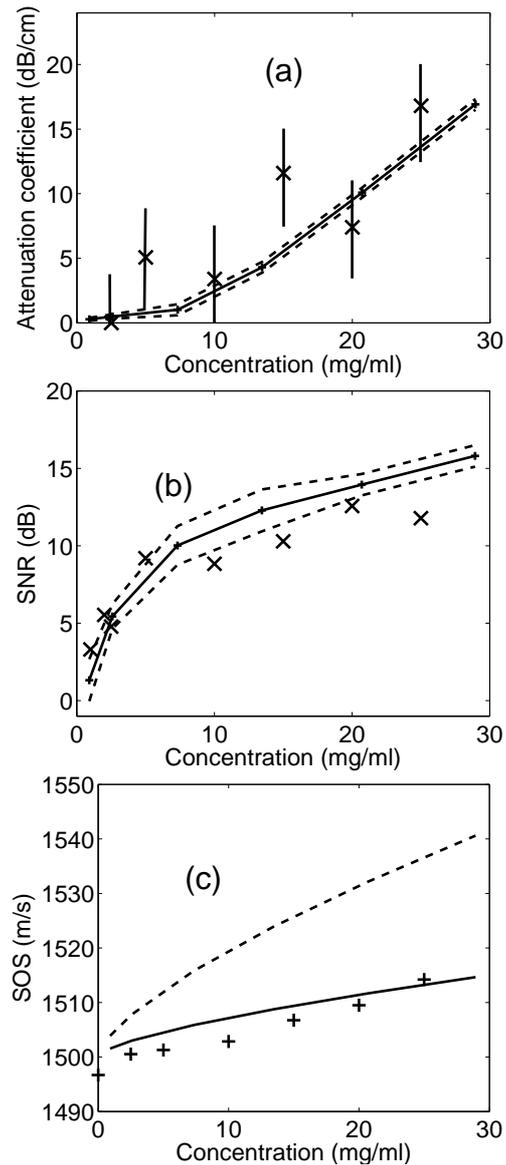


Figure 4: (a) Mean attenuation coefficient at 50 MHz, (b) Relative backscattered intensity I_B and (c) speed of sound and as a function of concentration of polystyrene microspheres. The black solid lines correspond to numerical results. The two dashed lines in (a) and (b) indicate the sum (respectively the subtraction) of the mean and of the standard deviation of each quantity. The dashed line in (c) indicates the results obtained with an effective medium model. The crosses in (a) and (c) correspond to experimental results. The vertical lines in Fig. 4(a) indicate the experimental error. The experimental error in Fig. 4(a) (respectively 4(b)) is equal to 1 dB (respectively 0.1 m/s).

The speed of sound (V) variation versus concentration is displayed in Figure 4(c). We observe an increase in V for both experimental and simulated values as the particle concentration increases. The velocity of the ultrasonic

waves is influenced by the material properties and the density of the particles contained in the solution and to the amount of various phases present. Urick has developed a simple model [39] to predict the ultrasound velocity, V , in this kind of media. Starting with $V = \frac{1}{\sqrt{\tilde{\rho}\tilde{\beta}}}$, he

postulated that $\tilde{\rho}$ and $\tilde{\beta}$ are respectively the mass density and compressibility obtained from a simple law of mixture. For polystyrene particles, this writes:

$$\tilde{\rho} = \Phi_l \rho_l + \Phi_w \rho_w, \quad (7)$$

$$\tilde{\beta} = \Phi_l \beta_l + \Phi_w \beta_w, \quad (8)$$

where Φ_l (respectively Φ_w) are the volume fraction of the inclusions (respectively water). The discrepancy between Urick's model and the simulated data increases with concentration of polystyrene particles and reaches 24 m/s for $C = 30$ mg/ml i.e. $\Delta V/V < 2\%$. However, our two-dimensional simulations achieve a reasonable agreement with the experimental ultrasound properties of polystyrene microspheres solutions.

B. UCA solutions.

Since the simulated data are in fair agreement with experimental values obtained with polystyrene spheres, we extended our simulations to model UCA composed of a liquid perfluorocarbon core surrounded by a polymeric capsule. As we expect, the ultrasound properties of a given solution build using the procedure described in section A depend on the random distribution of UCA particles. For each set of parameters (concentration, density, longitudinal and transverse speeds of sound of the membrane), 15 different solutions were considered. This value (15) corresponds to a compromise between reasonable computation time and an acceptable convergence of the ultrasonic parameters. We have checked that an increase of the number of

simulated solutions from 15 up to 20 did not affect significantly our results.

Figure 2(a) shows simulation of signals transmitted through water, and through the solution of UCA particles both recorded at $y = 1$ mm. The corresponding backscattered signal is shown in Fig. 2(b).

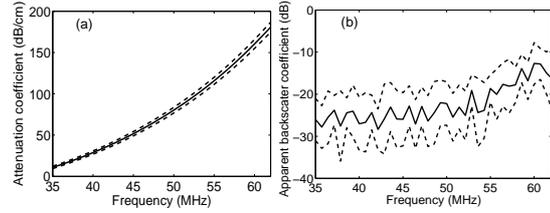


Figure 5: (a) Mean attenuation coefficient and (b) backscattering cross section obtained when averaging the results obtained with the 15 solutions constituting the simulation set corresponding to $C = 60.4$ mg/ml and $T/R = 0.35$. The two dashed lines in (a) and (b) indicate the sum (respectively the subtraction) of the mean and of the standard deviation of each quantity.

Figure 5(a) shows the variation of the attenuation coefficient between 35 and 62 MHz, averaged for 15 different solution constructed using the same parameters ($T/R = 0.35$, $C = 60.4$ mg/ml). The two dashed lines indicate the sum (respectively the subtraction) of the mean and of the standard deviation values of the attenuation coefficient. The maximum value of the ratio between standard deviation and mean value of the attenuation coefficient is about 3%, indicating a good reproducibility. The corresponding variation of the Apparent Backscattered Coefficient, $ABC(f)$, is represented with a solid line in Fig. 5(b). Again, the two dashed lines indicate the sum (respectively the subtraction) of the mean and of the standard deviation values of $ABC(f)$. The ratio between the standard deviation and the mean value of the $ABC(f)$ is of the order of 25% .

B.1. Effect of concentration.

When dealing with UCA, it is important to know the concentration of particles that should be injected to produce the optimum effect. For this

reason, we have investigated the effect of concentration on the speed of sound, attenuation and backscattered intensity. Eight concentrations, ranging from 1.37 to 79.4 mg/ml, were used herein and are listed in Table 2 with the corresponding values of N obtained from Eq. 3.

N	200	400	800	1200	1600	2000	2500	3000
(mg/ml)	1.37	3.87	10.9	20.09	30.93	43.22	60.41	79.4

Table 2: Number N of particles accounted for in the simulation domain and of the corresponding ultrasound contrast agent concentration.

The attenuation coefficient at 50 MHz increases with the UCA concentration, (see Fig. 6(a)). This result is consistent with experimental measurements of the signal to noise ratio at 50 MHz of the same kind of UCA for various sizes and capsule thickness [12]. All their measurements show an identical behavior to our simulation.

As shown in Fig. 6(b), the mean apparent backscattered coefficient (referred to as I_B in what follows) presents a similar behavior than I_B (it increases with the concentration) and a saturation can be observed for high concentration values, which may be due to multiple scattering phenomena. Note that different methods [35, 40, 41] have been devised in order to correct backscatter measurements from the influence of attenuation. However, these methods were not implemented in this work, as our goal was not to retrieve the real backscatter coefficient of the solution but to assess the potential of our approach to model the ultrasound propagation.

A decrease of sound velocity is shown in Fig.6(c) as the concentration of UCA disks increases. The standard deviation for V values is always lower than 1.3 m/s (not shown). This variation is well fitted by Urick's model since the largest observed deviation is of order of 1.4%.

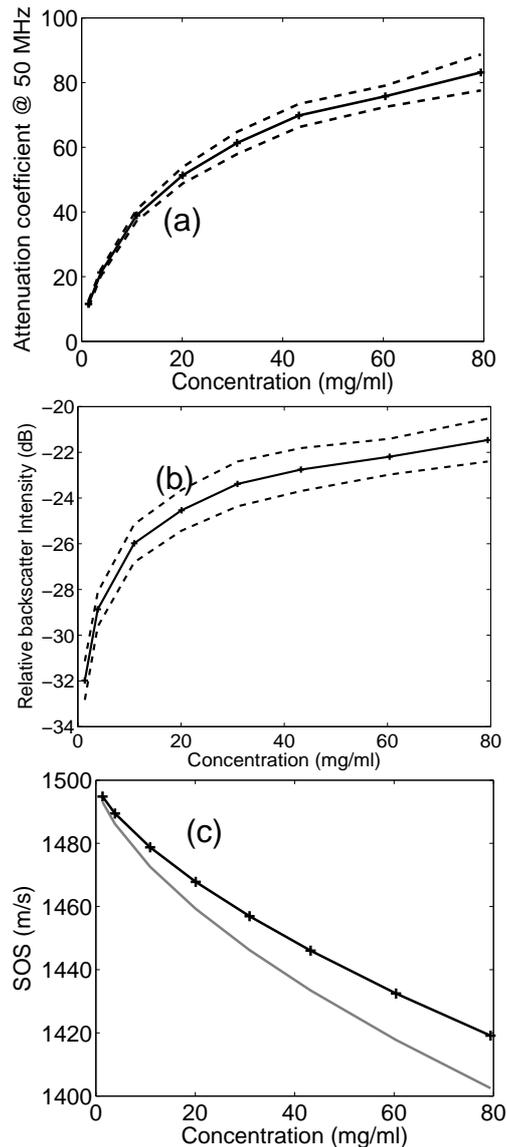


Figure 6: (a) Mean attenuation coefficient at 50 MHz, (b) Relative backscattered intensity I_B and (c) speed of sound and as a function of UCA concentration for a ratio $T/R=0.35$. The black solid lines correspond to numerical results. The two dashed lines in (a) and (b) indicate the sum (respectively the subtraction) of the mean and of the standard deviation of each quantity. The grey line in (c) indicates the results obtained with an effective medium model.

To conclude, our simulations show that UCA are the most efficient (i.e. exhibit the largest I_b value) for concentration higher than 30 mg/ml, in good agreement with experimental data [12]. Note that the small gain obtained using much higher concentration may not be worthy as large concentration of UCA may induce side effect in the organism.

B.2. Influence of capsule thickness.

Most commercial UCA possess a very thin capsule thickness. This feature has been used in most theoretical models as it provides a useful approximation that greatly simplifies the analytical approaches. Consequently the developed models are not capable to describe UCA with thick capsules. This is unfortunate as the use of thick polymeric capsule becomes popular because they reduce the diffusion of the encapsulated perfluorocarbon fluid and increase the UCA stability. That is why we have investigated the influence of capsule thickness to the ultrasound properties of an UCA solution. Five different T/R values were simulated for an identical number of particules ($N=2500$) and using the PLGA "reference" material properties. The values of T/R were chosen to approximately correspond to typical which are likely to be achieved experimentally, that is $T/R = 0.15, 0.25, 0.35, 0.45$ and 0.55 . As the radius is constant and equal to $6 \mu\text{m}$, this means that capsule thickness increases from 0.9 to $3.3 \mu\text{m}$ as T/R increases from 0.15 to 0.55 .

Figure 7(a) shows that an increase in capsule thickness induces a decrease in the attenuation coefficient at 50 MHz . The dependence of the attenuation coefficient at 50 MHz on variations of the capsule geometrical properties can be explained by considering the elastodynamic behavior of an isolated UCA particle. Circumferential waves [42, 43] may propagate within the capsule and radiate in water. Such waves could significantly influence the ultrasonic propagation in a suspension of UCA. Propagation modes (e.g. guided wave modes) corresponding to circumferential waves still remain unclear but the capsule thickness is likely to significantly affect the propagation in such objects. Therefore, changing the value of T/R may affect the propagation

and therefore induce a change of attenuation. These results are consistent with previous results showing that the response of UCA solution is strongly influenced by the shell properties [44, 45]. However, more work is required in order to better understand these effects.

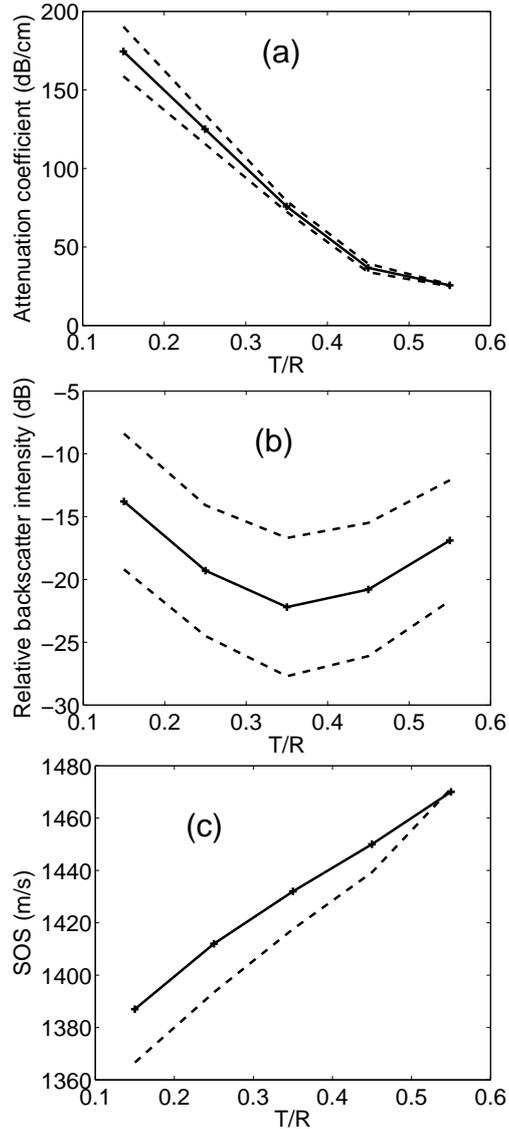


Figure 7: (a) Mean attenuation coefficient at 50 MHz , (b) Relative backscattered intensity I_B and (c) speed of sound and as a function T/R for UCA concentration $C=60.4 \text{ mg/ml}$. The black solid lines correspond to numerical results. The two dashed lines in (a) and (b) indicate the sum (respectively the subtraction) of the mean and of the standard deviation of each quantity. The dashed line in (c) indicates the results obtained with an effective medium model.

The behavior of I_B is more complex as shown in Fig. 7(b). For $T/R < 0.35$, I_B

decreases as T/R increases and reaches a minimum value for $T/R = 0.35$. For low T/R values (thin membrane), the decrease of I_B is consistent with the decrease of attenuation obtained in the last paragraph. The strong attenuation obtained for low T/R values implies that only the region located nearby the emitter contributes to the backscattered signal. However, for $T/R > 0.35$, the size of the region contributing to the backscattered signal increases due to a decrease of attenuation, which may explain the observed increase of I_b . In summary, two competing phenomena contribute to I_B : the increase of the size of the insonified region and the decreasing attenuation. For nano-UCA, Pisani et al. [12] observed only a decrease of the backscattered signal, which suggest that the backscattered cross section is the only significant contribution to the backscattered signal.

As shown in Fig. 7(c), an increase of sound velocity is observed when T/R increases. This variation is well fitted by Urick's model since the largest observed deviation is of the order of 1.4 %.

B.3. Effect of polymer properties.

The effect of capsule properties is investigated for the same concentration ($C = 60.4$ mg/ml), an identical ratio $T/R = 0.35$, but three different PLGA properties as displayed in Table 1. The first one corresponds to the "reference" material properties that were used for all our previous simulations. The second (respectively third) one corresponds to the same transverse (respectively longitudinal) wave velocity but with different longitudinal (transverse) wave velocity ($V_{L,PLGAR}$) increased by an amount of 10 % as compared to the reference case (see Table 3). This change in $V_{L,PLGAR}$ may be achieved by altering the chemical composition in lactic and glycolic acids. The reference values are for a 50 % lactic acid and 50% glycolic acid composition.

Our simulations show that the UCA efficiency is weakly influenced by changes in polymer properties since I_B value is nearly insensitive to the increase by 10 % of either the longitudinal or the transverse sound speed in the polymer (see Table 3). The speed of sound in solution increases by 6 m/s when the longitudinal velocity increases by 10% and by 3 m/s for the same increase of transverse velocity. As shown in Table 3, the attenuation coefficient at 50 MHz strongly depends of changes in both $V_{T,PLGA}$ and $V_{L,PLGA}$. The dependence of attenuation and of the velocity on changes of $V_{T,PLGA}$ shows that the contribution of polymer properties to ultrasound parameters is not straightforward and suggest that mode conversions and transverse wave propagation in PLGA may play a significant role.

Type of PLGA capsule	PLGA _R	PLGA _L	PLGA _T
Sound celerity in UCA solution (m/s)	1432 ± 0.12	1438 ± 0.1	1435 ± 0.1
Attenuation coefficient at 50 MHz (dB/cm)	75.8 ± 3.4	54.9 ± 3	99.5 ± 3.1
Relative backscattering intensity (dB)	-22.2 ± 5.5	-21.5 ± 5.5	-22.1 ± 5.5

Table 3: UCA solution ultrasonic properties at $C = 60.4$ mg/ml for different properties of PLGA capsule (see Table 1).

V. Conclusion.

The design from scratch of Ultrasonic Contrast Agents is difficult as we cannot predict the right combination of properties that would optimize the UCA since to the best of our knowledge there is no universal analytical model capable to predict the ultrasonic behavior of UCA suspensions.

The advantage of FDTD simulations is to be able to provide a reasonable estimation of ultrasound properties of UCA solution based on the chemical and physical

properties of the materials. For now our SimSonic code does not take into account any volume variation, thus non-linear ultrasound behavior, such as harmonic generation or radiation pressure [3, 46], cannot be modeled. On the other hand absorption effects are not taken into account although viscous and viscoelastic effects [47, 48] have been shown to play a role in the ultrasonic propagation in UCA suspensions. Only the part of attenuation that depends on scattering phenomena, particle concentration and structural properties, ultrasound wave frequency and impedance mismatch between water and particles is considered here.

However, they are not severe limitations for rigid particles as demonstrated above for homogenous polymeric microparticles. Our simulations are still reliable for UCA surrounded by a thick polymeric capsule, which makes it quite rigid. Such UCA were studied by Pisani et al. [12]. Again our simulation results are in fair

agreement with experimental data. Thus despite the limitations stated above our FDTD numerical simulation tool proves to be a promising approach to better understand the physical determinants that influences ultrasound propagation in UCA suspensions. It should help UCA manufacturers to design more efficient particles by relating the physical properties of the UCA solution with the expected ultrasound response.

The next logical step will be to establish direct comparison between experimental measurements and results obtained from our simulation tool.

Acknowledgments.

Authors acknowledge financial support from ANR (Agence Nationale de la Recherche, ACUVA n° NT05-3_42548) and from EC-FP6-project DiMI, LSHB-CT-2005-512146.

References:

- [1] D. Goldberg, J. Raichlen, and F. Forsberg, *Ultrasound Contrast Agents: Basic Principles and Clinical Applications*. London, 2001.
- [2] F. S. Foster, C. J. Pavlin, K. A. Harasiewicz, D. A. Christopher, and D. H. Turnbull, "Advances in ultrasound biomicroscopy," *Ultrasound Med Biol.*, vol. 26, pp. 1-27., 2000.
- [3] J. A. Ketterling, J. Mamou, J. S. Allen, 3rd, O. Aristizabal, R. G. Williamson, and D. H. Turnbull, "Excitation of polymer-shelled contrast agents with high-frequency ultrasound," *J Acoust Soc Am.*, vol. 121, pp. EL48-53., 2007.
- [4] F. S. Foster, M. Y. Zhang, Y. Q. Zhou, G. Liu, J. Mehi, E. Cherin, K. A. Harasiewicz, B. G. Starkoski, L. Zan, D. A. Knapik, and S. L. Adamson, "A new ultrasound instrument for in vivo microimaging of mice," *Ultrasound Med Biol.*, vol. 28, pp. 1165-72., 2002.
- [5] M. Berson, J. M. Gregoire, F. Gens, J. Rateau, F. Jamet, L. Vaillant, F. Tranquart, and L. Pourcelot, "High frequency (20 MHz) ultrasonic devices: advantages and applications," *Eur J Ultrasound.*, vol. 10, pp. 53-63., 1999.
- [6] F. S. Foster, M. Zhang, A. S. Duckett, V. Cucevic, and C. J. Pavlin, "In vivo imaging of embryonic development in the mouse eye by ultrasound biomicroscopy," *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, vol. 44, pp. 2361-6., 2003.
- [7] F. S. Foster, P. N. Burns, D. H. Simpson, S. R. Wilson, D. A. Christopher, and D. E. Goertz, "Ultrasound for the visualization and quantification of tumor microcirculation," *Cancer Metastasis Rev.*, vol. 19, pp. 131-8., 2000.
- [8] D. E. Goertz, J. L. Yu, R. S. Kerbel, P. N. Burns, and F. S. Foster, "High-frequency Doppler ultrasound monitors the effects of antivasular therapy on tumor blood flow," *Cancer Res.*, vol. 62, pp. 6371-5., 2002.
- [9] F. Forsberg, B. B. Goldberg, J. B. Liu, D. A. Merton, N. M. Rawool, and W. T. Shi, "Tissue-specific US contrast agent for evaluation of hepatic and splenic

- parenchyma," *Radiology.*, vol. 210, pp. 125-32., 1999.
- [10] G. M. Lanza, K. D. Wallace, M. J. Scott, W. P. Cacheris, D. R. Abendschein, D. H. Christy, A. M. Sharkey, J. G. Miller, P. J. Gaffney, and S. A. Wickline, "A novel site-targeted ultrasonic contrast agent with broad biomedical application," *Circulation.*, vol. 94, pp. 3334-40., 1996.
- [11] O. Couture, P. D. Bevan, E. Cherin, K. Cheung, P. N. Burns, and F. S. Foster, "Investigating perfluorohexane particles with high-frequency ultrasound," *Ultrasound Med Biol.*, vol. 32, pp. 73-82., 2006.
- [12] E. Pisani, N. Tsapis, J. Paris, V. Nicolas, L. Cattel, and E. Fattal, "Polymeric nano/microcapsules of liquid perfluorocarbons for ultrasonic imaging: physical characterization," *Langmuir.*, vol. 22, pp. 4397-402., 2006.
- [13] C. C. Church, "The effects of an elastic solid surface layer on the radial pulsations of gas bubbles," *J Acoust Soc Am.*, vol. 97, pp. 1510-1521, 1995.
- [14] N. de Jong, L. Hoff, T. Skotland, and N. Bom, "Absorption and scatter of encapsulated gas filled microspheres: theoretical considerations and some measurements," *Ultrasonics.*, vol. 30, pp. 95-103., 1992.
- [15] T. Hasegawa, Y. Hino, A. Annou, H. Noda, M. Kato, and N. Inoue, "Acoustic radiation pressure acting on spherical and cylindrical shells," *J Acoust Soc Am.*, vol. 93, pp. 154-161, 1993.
- [16] E. Stride and N. Saffari, "Investigating the significance of multiple scattering in ultrasound contrast agent particle populations," *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control.*, vol. 52, pp. 2332-45., 2005.
- [17] K. Commander and A. Prosperetti, "Linear pressure waves in bubbly liquids: Comparison between theory and experiments," *J Acoust Soc Am.*, vol. 85, pp. 732-746, 1989.
- [18] R. B. Yang and A. K. Mal, "Multiple-scattering of elastic waves in a fiber-reinforced composite," *J. Mech. Phys. Solids*, vol. 42, pp. 1945-1968, 1994.
- [19] G. Haiat, A. Lhémy, F. Renaud, F. Padilla, P. Laugier, and S. Naili, "Velocity dispersion in trabecular bone: influence of multiple scattering and of absorption," *J Acoust Soc Am.*, Conditionally accepted.
- [20] J. Chen and Z. Zhu, "Ultrasound attenuation in encapsulated microbubble suspensions: The multiple scattering effects," *Ultrasound Med Biol.*, vol. 32, pp. 961-9., 2006.
- [21] J. Mobley, K. R. Waters, C. S. Hall, J. N. Marsh, M. S. Hughes, G. H. Brandenburger, and J. G. Miller, "Measurements and predictions of the phase velocity and attenuation coefficient in suspensions of elastic microspheres," *J Acoust Soc Am.*, vol. 106, pp. 652-659, 1999.
- [22] E. Bossy, M. Talmant, and P. Laugier, "Three-dimensional simulations of ultrasonic axial transmission velocity measurement on cortical bone models," *J Acoust Soc Am.*, vol. 115, pp. 2314-24., 2004.
- [23] E. Bossy, F. Padilla, F. Peyrin, and P. Laugier, "Three-dimensional simulation of ultrasound propagation through trabecular bone structures measured by synchrotron microtomography.," *Phys Med Biol.*, vol. 50, pp. 5545-5556, 2005.
- [24] G. Haiat, F. Padilla, and P. Laugier, "Sensitivity of QUS parameters to controlled variations of bone strength assessed with a cellular model," *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control.*, in press.
- [25] G. Haiat, F. Padilla, F. Peyrin, and P. Laugier, "Variation of Ultrasonic Parameters with Trabecular Bone Properties: a Three-Dimensional Model Simulation," *J. Bone Miner. Res.*, vol. 12, pp. 12, 2007.
- [26] R. Graves, "Simulating seismic wave propagation in 3D elastic media using staggered-grid finite differences," *Bull. Seismol. Soc. Am.*, vol. 86, pp. 1091-1106, 1996.
- [27] J. Virieux, "P-SV wave propagation in heterogenous media: Velocity-stress finite-difference method," *Geophysics*, vol. 51, pp. 889-901, 1986.
- [28] F. Collino and C. Tsogka, "Application of the PML absorbing layer model to the linear elastodynamic problem in anisotropic heterogeneous media," *Geophysics*, vol. 66, pp. 294-307, 2001.
- [29] K. L. Karau, R. C. Molthen, A. Dhyani, S. T. Haworth, C. C. Hanger, D. L. Roerig, R. H. Johnson, and C. A. Dawson, "Pulmonary

- arterial morphometry from microfocal X-ray computed tomography," *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, vol. 281, pp. H2747-56., 2001.
- [30] K. P. Andriano, Y. Tabata, Y. Ikada, and J. Heller, "In vitro and in vivo comparison of bulk and surface hydrolysis in absorbable polymer scaffolds for tissue engineering," *J Biomed Mater Res.*, vol. 48, pp. 602-12., 1999.
- [31] J. M. Powers and R. M. Caddell, " The macroscopic volume changes of selected polymers subjected to uniform tensile deformation.," *Polymer Engineering and Science*, vol. 12, pp. 432- 436, 1972.
- [32] G. Haiat, F. Padilla, R. Barkmann, S. Dencks, U. Moser, C. C. Gluer, and P. Laugier, "Optimal prediction of bone mineral density with ultrasonic measurements in excised human femur," *Calcif. Tissue Int.*, vol. 77, pp. 186-92. Epub 2005 Sep 15., 2005.
- [33] D. Royer and E. Dieulesaint, *Elastic Waves in Solids I*: Springer, 2000.
- [34] F. T. D'Astous and F. S. Foster, "Frequency dependence of ultrasound attenuation and backscatter in breast tissue," *Ultrasound Med Biol.*, vol. 12, pp. 795-808., 1986.
- [35] S. Chaffai, V. Roberjot, F. Peyrin, G. Berger, and P. Laugier, "Frequency dependence of ultrasonic backscattering in cancellous bone: autocorrelation model and experimental results," *J Acoust Soc Am.*, vol. 108, pp. 2403-11., 2000.
- [36] J. J. Faran, "Sound scattering by solid cylinders and spheres," *Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 23, pp. 405-418, 1951.
- [37] L. Adjadj, G. Storti, and M. Morbidelli, "Ultrasound attenuation in polystyrene latexes," *Langmuir*, vol. 19, pp. 3953-57, 2003.
- [38] K. A. Wear, "The dependencies of phase velocity and dispersion on trabecular thickness and spacing in trabecular bone-mimicking phantoms," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 118, pp. 1186-92., 2005.
- [39] R. J. Urick, "A sound velocity method for determining the compressibility of finely divided substances," *J Appl Phys*, vol. 18, pp. 983-987, 1947.
- [40] M. O'Donnel and J. G. Miller, "Quantitative broadband ultrasonic backscatter : An approach to non-destructive evaluation in acoustically inhomogeneous materials," *Journal of Applied Physics*, vol. 52, pp. 1056-1065, 1981.
- [41] V. Robergeot, P. Laugier, P. Droin, P. Giat, and G. Berger, "Measurement of integrated backscatter coefficient of trabecular bone," presented at IEEE Ultrasonics Symposium, 1996.
- [42] R. Barkmann, E. Kantorovich, C. Singal, D. Hans, H. Genant, M. Heller, and C. Gluer, "A new method for quantitative ultrasound measurements at multiple skeletal sites," *J Clin Densitometry*, vol. 3, pp. 1-7, 2000.
- [43] G. Haiat, F. Padilla, R. Barkmann, S. Kolta, C. Latremouille, C. C. Gluer, and P. Laugier, "In vitro speed of sound measurement at intact human femur specimens," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 31, pp. 987-96., 2005.
- [44] C. X. Deng, F. L. Lizzi, R. H. Silverman, R. Ursea, and D. J. Coleman, "Imaging and spectrum analysis of contrast agents in the in vivo rabbit eye using very-high-frequency ultrasound," *Ultrasound Med Biol.*, vol. 24, pp. 383-94., 1998.
- [45] M. Postema and G. Schmitz, "Ultrasonic bubbles in medicine: Influence of the shell," *Ultrason Sonochem.*, vol. 14, pp. 438-44. Epub 2007 Jan 10., 2007.
- [46] Y. Sun, D. E. Kruse, P. A. Dayton, and K. W. Ferrara, "High-frequency dynamics of ultrasound contrast agents," *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control.*, vol. 52, pp. 1981-91., 2005.
- [47] K. Sarkar, W. T. Shi, D. Chatterjee, and F. Forsberg, "Characterization of ultrasound contrast microbubbles using in vitro experiments and viscous and viscoelastic interface models for encapsulation," *J Acoust Soc Am.*, vol. 118, pp. 539-50., 2005.
- [48] L. Hoff, P. C. Sontum, and J. M. Hovem, "Oscillations of polymeric microbubbles: effect of the encapsulating shell," *J Acoust Soc Am.*, vol. 107, pp. 2272-80., 2000

5.6 Ondes diffusées secondaires

Dans l'annexe 3 présentons une analyse de l'origine des échos diffusés secondaires, phénomène observé dans l'étude *in silico* (voir figures ci-dessus 5-5 et 5-9 par exemple) de la diffusion acoustique entre un disque isolé homogène ou d'ACU et une onde incidente de 50 MHz (2 cycles, durée 0,04 μ s). Cette analyse est faite pour des disques de rayons $R = 3$ et 10 μ m, avec un paramètre d'épaisseur de $T/R = 0, 0,35$ et 1. Plusieurs hypothèses sont envisagées : réflexions internes et ondes de surface

Des études théoriques et expérimentales ont montrées que, pendant le processus de diffusion, en plus de la réflexion spéculaire (écho diffusé principal), plusieurs autres phénomènes peuvent avoir lieu en produisant dans certaines conditions un train d'échos diffusés secondaires. D'une part, les ondes réfractées à l'intérieur de la particule peuvent ré-émerger soit immédiatement soit après une série de réflexions multiples, où particulièrement pour le cas de particules élastiques, la conversion des modes peut être présente.

Il s'agit d'un travail préliminaire, la modélisation doit être complétée. Toutefois l'hypothèse de la présence d'ondes de surface est plus la plus probable. De plus, dans la méthode utilisée pour reconstruire la forme du train d'échos secondaires, il serait nécessaire d'introduire les sources secondaires qui se forment le long de toute l'interface particule/milieu, ainsi que de considérer les effets liés à l'interface cœur/capsule dans le cas des particules d'ACU.

Chapitre 6 : Bilan et conclusions

6.1 Bilan général

6.1.1 Le paramètre de rehaussement

L'étude *in vitro* du rehaussement de contraste acoustique réalisé en utilisant le paramètre rapport signal sur bruit, $\overline{SNR_p}$, nous a permis de caractériser l'efficacité d'un nouveau type d'ACU en termes de concentration en masse de particules (C) et des propriétés structurales (R et T/R). La modélisation de ce paramètre, en supposant un régime de diffusion simple et un bruit blanc additif (section 2.6), montre qu'il peut être lié directement au coefficient de rétrodiffusion $\eta_{rd}(f)$, ce qui permet de l'estimer. Cette estimation, est appuyée sur les observations expérimentales, qui ont montré que les effets de diffusions multiples et de pertes dues à l'atténuation sont négligeables.

L'étude des caractéristiques du bruit nous a permis de vérifier son caractère additif. Cependant, nous avons pu constater qu'il ne s'agit pas d'un bruit blanc aléatoire et stationnaire. En fait, on observe la présence de pics qui ne sont pas complètement éliminés par le moyennage des spectres. Néanmoins, on s'intéresse au comportement global du $SNR_p(f)$ dans la bande passante de la sonde ultrasonore, et avoir un bruit complètement aléatoire n'est pas une caractéristique si incontournable¹. En fait, ces pics limitent seulement la précision de nos mesures de rehaussement de contraste. A l'avenir, l'origine de ces pics devra être établie afin

de développer une méthode de traitement des signaux pour améliorer la précision des mesures de rehaussement de contraste.

La modélisation du paramètre \overline{SNR}_p indique aussi qu'il s'agit d'un paramètre dépendant du niveau de bruit. Cependant, l'effet de son influence nous a permis de montrer qu'une variation significative de l'ordre de 50 % par rapport à la valeur moyenne, observée au long d'une année de mesures, ne produit pas d'effets significatifs sur les mesures de rehaussement de contraste (figure 4.1 et section 4.1.3).

6.1.2 Particules homogènes

L'analyse des résultats obtenus pour les particules homogènes de *PLGA* montre que la théorie de Faran prédit le comportement observé pour les microparticules, où les différences peuvent être attribuées aux différences des propriétés physiques du polymère *PLGA* (Figures 4.3 et 4.6) considéré ici, comme un solide élastique isotrope. Néanmoins, pour les nanoparticules le modèle de Faran prédit un rehaussement négligeable, ce qui est en désaccord avec nos mesures. Ce désaccord a été analysé en considérant une distribution polydisperse de particules et en prenant en compte les phénomènes d'agglomération. Cependant, aucun de ces deux effets n'a complètement expliqué cette différence.

L'étude de l'effet de la taille de particules, indique un comportement en $R^{5,4 \pm 0,1}$ proche du comportement du type Rayleigh R^6 prédit pour les particules de taille inférieure à la longueur d'onde ($k_3 R \ll 1$, équation 2.29).

6.1.3 Particules d'ACU

6.1.3.1 Effet de la concentration

L'étude *in vitro* consacrée aux mesures du rehaussement de contraste par des solutions d'ACU, montre que l'effet de la taille de particules prédomine sur l'effet de la concentration, avec un rehaussement maximum de l'ordre de 14 dB pour les particules de 6 μm de diamètre (figure 4.11), ce qui est cohérent avec un comportement de type Rayleigh. La normalisation du paramètre \overline{SNR}_p , en considérant le nombre total de particules (i.e. le \overline{SNR}_p unitaire), indique que dans le domaine de concentration étudié (< 50 mg/ml), il n'existe pas de preuve suffisante de la présence de phénomènes tels que la diffusion multiple et les pertes dues à l'atténuation. L'étude *in silico* du rehaussement de contraste en fonction de la concentration des particules

¹ La modélisation de ce paramètre montre que pour avoir une convergence $\overline{SNR}_p \rightarrow 0$ lorsque $C \rightarrow 0$, il est seulement nécessaire d'avoir un bruit aditif indépendante des processus de diffusion.

est en accord avec nos observations expérimentales, et de plus, elle donne aussi des informations importantes sur la vitesse et atténuation effectives des ondes acoustiques dans la solution d'ACU.

6.1.3.2 Effet de la taille

L'étude *in vitro* de l'effet de la taille suggère un comportement en $R^{5,2 \pm 0,2}$ proche de celui qui est observé pour les particules homogènes. Cet effet a été bien confirmé par l'étude *in silico* de la réponse acoustique par des particules d'ACU isolées ($1 \leq R \leq 4 \mu\text{m}$). Ce résultat explique la prédominance de l'effet de la taille sur la concentration des particules. En conclusion, nous pouvons dire que le cœur de PFOB affecte peu la loi de variation du rehaussement de contraste en fonction de la taille et qu'il ne vaut pas la peine d'augmenter la taille des particules au-delà de la limite de Rayleigh (environ 8 μm de diamètre pour 50 MHz).

6.1.3.3 Effet de l'épaisseur de la capsule

L'analyse de l'effet de l'épaisseur de la capsule de PLGA montre qu'il s'agit d'un phénomène complexe qui dépend aussi de la taille des particules. L'étude *in vitro* montre que, pour les particules de 6 μm de diamètre, il n'existe pas de configuration spécifique qui donne un rehaussement de contraste notable. En fait, on observe une réduction du rehaussement de contraste pour l'épaisseur la plus faible ($T/R = 0,25$). Cependant, pour les nanoparticules le rehaussement de contraste le plus efficace, est donné par les particules avec une épaisseur de capsule plus faible. Par ailleurs, l'étude *in silico* montre que pour le même type de particule, il existe un minimum de rehaussement de contraste autour de $T/R = 0,45$ pour les particules isolées, et autour de $T/R = 0,35$ pour une distribution de particules (section 5.4). La différence avec les résultats *in vitro* est due probablement à des effets qui ne sont pas pris en compte par la version actuelle du modèle numérique (effets non linéaires, changement de volume, phénomènes viscoélastiques, etc.) et/ou à une connaissance peu précise des propriétés élastiques du PLGA et de leur influence sur l'effet de l'épaisseur. Nous n'avons pas pu réaliser d'expériences *in silico* pour les nanoparticules, dues à la haute résolution spatiale requise pour décrire numériquement ce type de particules (< 15 nm).

6.1.3.4 Effet des propriétés mécaniques

Dans l'étude *in vitro* nous avons effectué des mesures de rehaussement de contraste en utilisant des particules d'ACU de 6 μm de diamètre et avec une capsule de PLA. Pour analyser ces résultats, il serait nécessaire de pouvoir mesurer de façon précise la masse volumique du matériau dont est formée la capsule. Par ailleurs, l'étude *in silico* de l'effet des propriétés physiques de la capsule, pour $T/R = 0,35$, montre que seule une variation significative de la rigidité (de plus de 50%) peut produire des effets significatifs sur la puissance rétrodiffusée. De cette façon, il est possible d'affirmer que les effets liés au comportement mécanique

(déformation sans changement de volume) prédominant sur les effets inertiels, attribués à la différence de masse volumique de la particule par rapport à celle du milieu extérieur (eau).

6.2 Conclusions et perspectives

L'objectif principal de ce travail était d'évaluer le comportement acoustique d'un nouveau type d'agent de contraste ultrasonique (*ACU*), constitué d'un cœur liquide de *PFOB* contenu par une capsule polymérique de *PLGA*, de façon à en optimiser les propriétés acoustiques (échogénicité). Pour cela, nous avons abordé trois démarches complémentaires : les mesures expérimentales *in-vitro* d'agents de contrastes réels, une méthodologie de simulation numérique de la réponse acoustique d'une particule isolée et d'une dispersion de particules, et une approche théorique basée sur le modèle de Faran, qui a permis de valider les résultats numériques et modéliser le paramètre de rehaussement de contraste.

En utilisant ces méthodes, nous avons étudié les effets de la concentration de particules, des propriétés structurales (taille moyenne R et paramètre d'épaisseur T/R) et des propriétés mécaniques de la capsule (masse volumique et rigidité).

Les principales conclusions de cette étude sont les suivantes :

- Le rehaussement de contraste augmente avec la concentration de particules et avec l'augmentation de taille en concordance avec les modèles de diffusion simple. Néanmoins, l'effet de la taille prédomine sur l'effet de la concentration. Le maximum rehaussement observé est de l'ordre de 14 dB pour les particules de 6 μm de diamètre.
- Dans le domaine de concentration étudié (maximum 50 mg/ml) et en considérant la précision des mesures de rehaussement de contraste, il n'existe pas de preuve suffisante de la présence de phénomènes comme la diffusion multiple et de pertes dues à l'atténuation. En conclusion, l'utilisation des théories de diffusion simple pour estimer le rehaussement de contraste justifiée.
- La composition des particules d'*ACU* (capsule de *PLGA* et cœur de *PFOB*) n'affecte pas leur comportement acoustique en termes de la variation de la taille des particules, qui a été observée pour les particules homogènes de taille inférieure à 6 μm (Rayleigh). Ce n'est pas nécessaire d'utiliser des particules plus grosses.
- L'effet de l'épaisseur de la capsule de *PLGA* est un phénomène complexe qui dépend de la taille des particules. Pour les particules de 6 μm de diamètre le rehaussement de contraste est minimal pour les capsules les plus fines ($T/R = 0,25$) et pour les nanoparticules (150 nm de diamètre) on observe que les capsules plus minces produisent un rehaussement plus efficace.

- La connaissance peu précise des propriétés élastiques du polymère *PLGA* n'a pas permis d'évaluer expérimentalement l'effet des propriétés élastiques de la capsule. Cependant, en s'appuyant sur les résultats numériques, nous pouvons conclure (seulement pour les microparticules) que seule une variation significative de leur rigidité peut produire des effets notoires sur le rehaussement de contraste.

La poursuite de ces travaux nécessite :

- une détermination plus précise des propriétés élastiques du polymère *PLGA*,
- une évaluation de la possibilité d'un comportement viscoélastique et
- une amélioration de la précision des mesures de rehaussement de contraste.

Ainsi, nous pourrions analyser les écarts avec la théorie de Faran observés pour les nanoparticules homogènes de *PLGA* et nous pourrions également aborder le problème de l'effet de l'épaisseur de la capsule.

Par ailleurs, pour l'étude numérique, même si les conditions actuelles de notre recherche limitent notre étude aux particules micrométriques, cette étude est une approche prometteuse. Le pas suivant serait de réaliser des simulations plus proches de la réalité en considérant des phénomènes comme la dispersion en taille des particules, l'agglomération et en incorporant les phénomènes dissipatifs et/ou viscoélastiques dans le code numérique.

Par ailleurs, le modèle de Hasegawa (cas sphérique) est aussi une alternative qui pourrait être utilisée pour une compréhension plus appropriée du problème de l'effet de l'épaisseur. Son implémentation serait alors souhaitable.

Annexe 1 : Agents de Contraste Ultrasonore

Nom	Fabricant	Type de coque et gaz	Etat d'approbation
Albunex®	Molecular Biosystems Inc./Mallinckrodt	Microbulles d'air stabilisées par une membrane d'albumine.	Aux USA et UE.
Levovits® (SHU 508A)	Schering AG	Suspension aqueuse d'un mélange de microparticules de galactose et d'acide palmitique	En UE, Canada et Japon pour utilisation en LVO et Doppler.
Echogen™ (QW3600)	Sonus/Abbot	Émulsion à 2 % de dodecafluoropentane.	En UE pour utilisation en LVO et EBD.
SonoVue™ (BR1)	Bracco	Microbulles de gaz de sulfure stabilisées par une membrane phospholipidique.	Aux USA et UE pour utilisation en LVO, EBD et micro/macro vasculaire Doppler.
Optison® (FS069)	Molecular Biosystems Inc./Mallinckrodt	Microbulles de perfluorocarbone stabilisées par une membrane d'albumine.	Aux USA, UE et Canada pour utilisation en LVO, EBD et Doppler.
SonoRx	Bracco	Suspension de cellulose recouverte de Simethicone.	Aux USA et UE pour utilisation GI.
Definity™ (DMP 115)	Dupont/ImaRx	Microbulles de perfluorocarbone stabilisées par une membrane phospholipidique.	Aux USA et UE pour utilisation en LVO et EBD.
Sonazoid™ (NC100100)	Nycomed	Gaz de perfluorobutane encapsulé par une membrane de lipides.	En développement: P.III aux USA et suspendue en UE.
Imagent® (AF0150)	Alliance/Schering	Gaz de perfluorohexane avec une membrane de surfactants	Aux USA et UE pour utilisation en LVO et EBD.
Sonovist® (SHU563A)	Schering AG	Hexafluorure de soufre encapsulé par une coque du polymère cyanoacrylate.	En développement
Imagyfi® (AI-700)	Acusphere Incorporated	Microsphères poreuses de PLGA avec gaz de perfluorocarbone	En développement: P.III aux USA

Tableau 1. ACU disponibles commercialement ou en phase d'essais cliniques. USA : États-Unis d'Amérique, UE : Union Européenne, LVO : Opacification ventriculaire gauche, EBD : Détection des limites de l'endocarde, GI : Gastro-intestinal. P.III : Troisième phase des essais cliniques.

Annexe 2 : optimisation des signaux et caractéristiques du bruit

Dans cette annexe, nous présentons l'optimisation de la bande passante de la sonde, du nombre de spectres (M) et de la taille de la fenêtre temporelle utilisée pour extraire les signaux. Une caractérisation du bruit est également présentée.

1. Optimisation des paramètres de traitement de signal

1.1. Bande passante de la sonde

La sonde est placée perpendiculairement à un réflecteur métallique considéré comme parfait (coefficient de réflexion voisin de l'unité). La figure 1 montre une mesure du spectre de puissance du signal de l'écho réfléchi par la plaque métallique, situé à la distance focale de la sonde ($Z_F \approx 12$ mm).

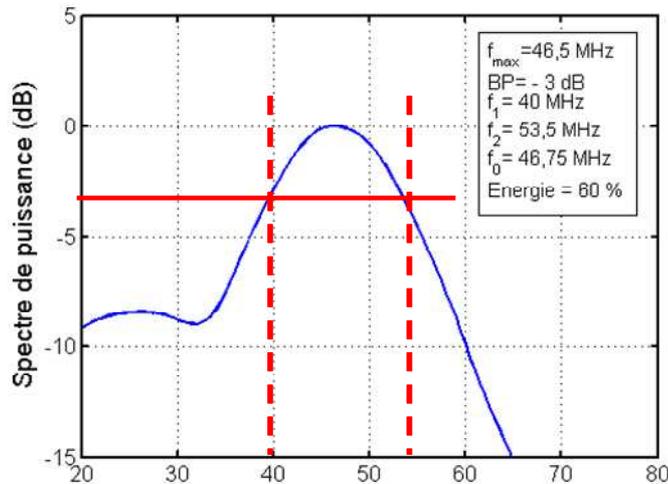


Figure 1 : Spectre de puissance du signal réfléchi par une plaque métallique. Détermination de la bande passante à - 3 dB (ligne rouge continue et traits discontinus pour les fréquences f_1 et f_2).

Cette courbe est ajustée, à partir des différents points de mesure de la bande passante à - 3 dB, par une fonction gaussienne (figure 2).

$$PSD_p(f) = PSD_{p,\max} e^{-\frac{(f-46,53)^2}{8,029^2}}$$

avec $PSD_{p,\max} = 7,49 \cdot 10^{-6} \text{ W} \cdot \text{Hz}^{-1}$

La fréquence centrale ainsi déterminée est de $f_0 = 46,75$ MHz et la bande passante à -3 dB comprise entre 40 et 53,5 MHz. Ce domaine de fréquence sera utilisé lors du traitement des données.

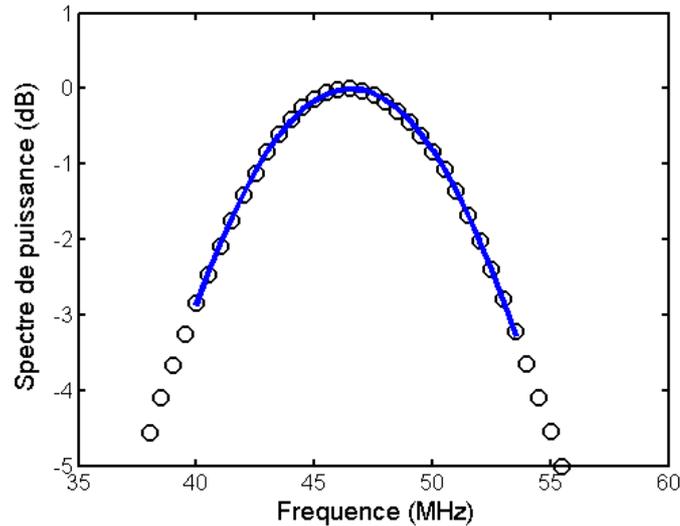


Figure 2 : Ajustement du spectre de puissance par une fonction gaussienne.

1.2. Calcul des spectres de puissance rétrodiffusés

Pour optimiser les paramètres nécessaires au calcul de la densité spectrale de puissance (PSD): nombre de spectres (M) et taille de la fenêtre temporelle utilisée pour extraire les signaux (Δ), nous avons utilisé des solutions d'ACU constituées par des gouttelettes de $PFOB$ entourées d'une coque de PLGA d'épaisseur $T = 1,05 \mu\text{m}$ ($T/R = 0,35$) dont le rayon moyen est $R = 3 \mu\text{m}$.

1.2.1. Optimisation du calcul de la valeur moyenne du spectre de puissance

La figure 3 montre l'évolution de la densité spectrale de puissance moyennée du signal rétrodiffusé $\langle PSD_s(f) \rangle$ (le signal) par une solution d'ACU de 42 mg/ml (soit de $2,5 \cdot 10^8$ particules/ml, lot 120506) et par de l'eau pure $\langle PSD_b(f) \rangle$ (le bruit), en fonction du nombre (M) de spectres utilisés pour calculer la valeur moyenne.

On observe que les fluctuations de la $\langle PSD_s(f) \rangle$ (figure 3A) sont fortement réduites par l'augmentation du nombre (M) de spectres illustrant ainsi l'élimination de la composante dépendante de la configuration spatiale des particules du signal rétrodiffusé, subsistant la

contribution propre des particules. Par contre, la densité spectrale du bruit $\langle PSD_b(f) \rangle$ (eau pure) évolue peu avec M (figure 3B).

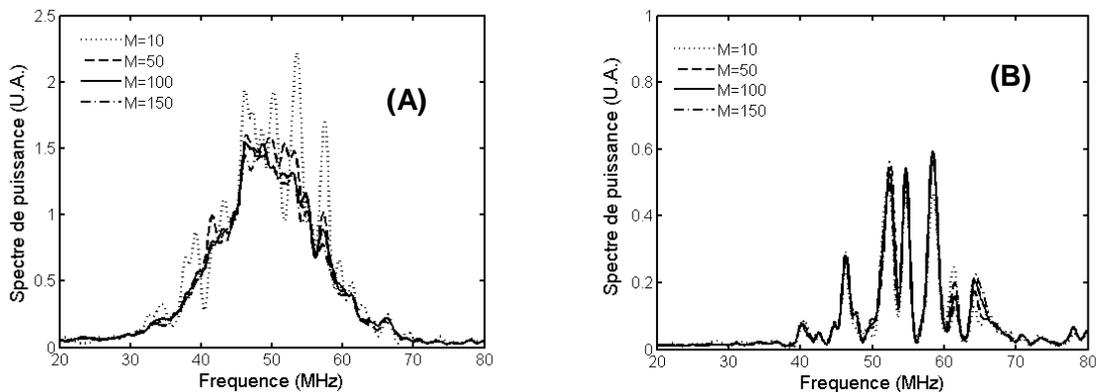


Figure 3 : Spectre de puissance moyenné sur $M = 10, 50, 100,$ et 150 spectres. (A) signal rétrodiffusé par une solution d'ACU de $C = 42$ mg/ml (signal). (B) signal rétrodiffusé par l'eau (bruit).

Le paramètre de rehaussement de contraste $SNR_p(f)$ est montré sur la figure 4. Comme les fluctuations du spectre de puissance du signal rétrodiffusé sont éliminées par moyennage, les fluctuations observées sur le $SNR_p(f)$ proviennent donc principalement des fluctuations du bruit initial $\langle PSD_b(f) \rangle$. En conséquence, l'incertitude du calcul de $\overline{SNR_p}$ ne peut pas être améliorée en augmentant le nombre (M) de spectres.

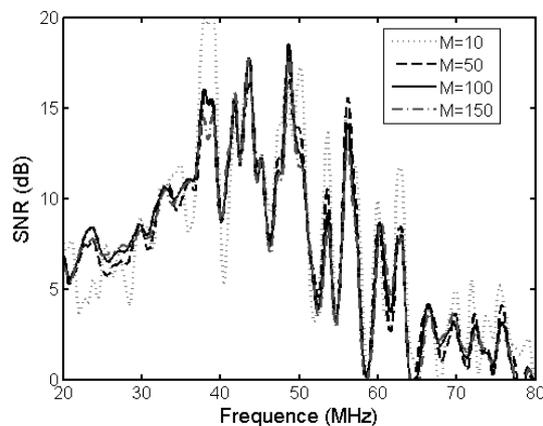


Figure 4 : Paramètre de rehaussement du signal rétrodiffusé en fonction de nombre (M) de spectres.

Le même type de calcul est présenté pour une concentration plus faible de particules (10 mg/ml, lot 220306) et un nombre plus grand de spectres (ou d'un temps d'acquisition plus grand). Sur la figure 5A on observe que certains pics du bruit sont aussi présents dans le signal rétrodiffusé (à 41, 50, 62 et 68 MHz), montrant ainsi le caractère additif du bruit. Cependant, au contraire de ce qui a été observé sur la figure 3A, on ne constate pas de réduction notable des fluctuations dans la $\langle PSD_s(f) \rangle$ lorsque M augmente. Cette différence est probablement due à

la faible concentration de particules qui produit un spectre de puissance plus faible dans ce deuxième cas, et fait que les fluctuations du bruit prédominent sur celles qui provient du signal diffusé.

Le calcul du $SNR_p(f)$ est montré sur la figure 6, où on peut observer que les minimas correspondent aux maximas du bruit.

De plus, on observe qu'à mesure que M augmente la puissance rétrodiffusée diminue. On verra plus tard que cette diminution est produite par la décantation de particules, effet que limite la quantité des spectres à une valeur de $M = 100$, correspondante à 55 secondes d'acquisition en environ.

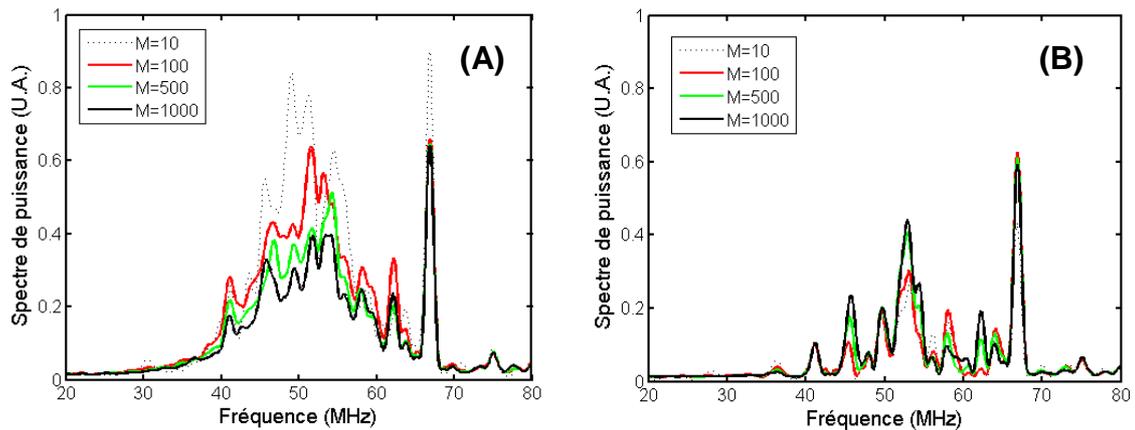


Figure 5 : Spectre de puissance moyenné sur $M = 10, 100, 500$ et 1000 spectres. (A) signal rétrodiffusé par une solution d'ACU de $C = 10$ mg/ml (soit de $6,35 \times 10^7$ particules/ml). (B) signal rétrodiffusé par l'eau (bruit).

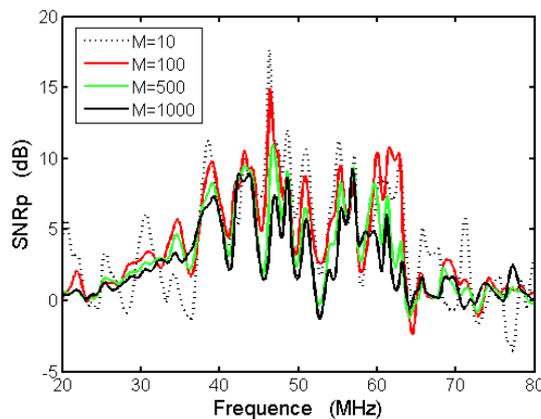


Figure 6 : Paramètre de rehaussement du signal rétrodiffusé $SNR_p(f)$ en fonction de nombre (M) de spectres pour le lot 220306.¹

¹ Les différences de forme des spectres de puissances (figure 5 et figure 3) sont liées à une concentration de particules plus faible pour la figure 5.

1.2.2. Taille et position de la fenêtre utilisée pour sélectionner l'intervalle du signal.

La figure 7A représente la variation du spectre de puissance dans l'eau (bruit) en fonction de la position du début de la fenêtre du type Hann et de taille égale à $0,5 \mu\text{s}$, qui se déplace avec un pas de $0,07 \mu\text{s}$ sur une plage de $3,68 \mu\text{s}$ à partir de la fin de l'écho de la membrane de PVC. On observe que l'amplitude du signal est indépendante de la position de la fenêtre. Deux maxima sont observés entre 50 et 60 MHz pour des positions de la fenêtre d'entre $0,75$ et $1,25 \mu\text{s}$ correspondant à une profondeur d'autour de $0,75 \text{ mm}$, et deux autres pics apparaissent entre 45 -55 MHz pour de positions proches de $2,5 \mu\text{s}$ équivalente à une profondeur de près de $1,9 \text{ mm}$ ($c_0 \approx c_{\parallel,0} = 1500 \text{ m.s}^{-1}$). Ces pics correspondent aux maxima observés sur la figure 3B et, leur origine soit électronique ou acoustique sera discutée postérieurement.

La figure 7B montre la variation du spectre de puissance du signal rétrodiffusé pour la solution de 42 mg/ml d'ACU. L'atténuation et la divergence du faisceau acoustique induisent des pertes de l'intensité incidente qui produisent une diminution de la puissance rétrodiffusée avec la profondeur du faisceau. Une estimation de l'effet de la divergence indique une perte de -5 dB sur 1 mm de profondeur pour un angle de divergence du faisceau de 10° (voir calcul à la fin).

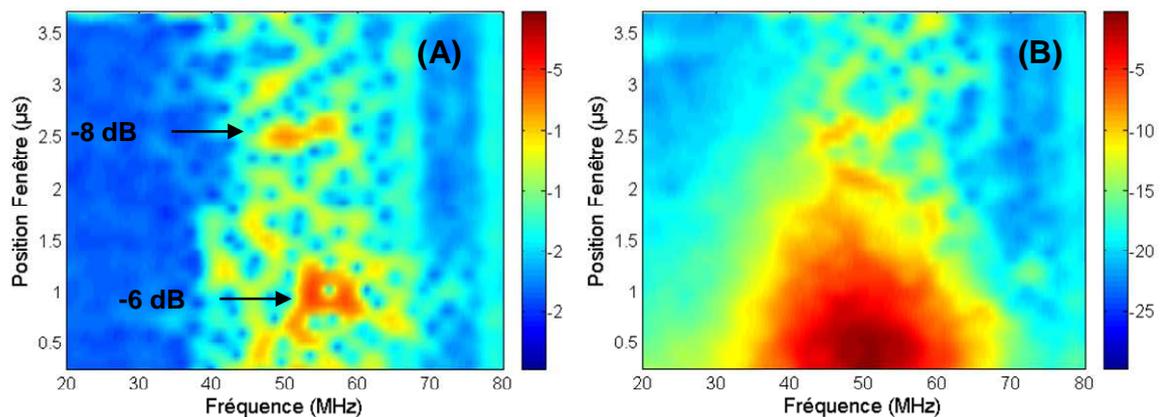


Figure 7 : Spectres de puissance moyennés en fonction du début de la fenêtre du type Hann. (A) eau pure (bruit), (B) solution d'ACU de rayon $R = 3 \mu\text{m}$ et paramètre d'épaisseur de la coque $T/R = 0,35$ ($T = 1,05 \mu\text{m}$). La concentration en ACU 42 mg/ml (soit de $2,5 \times 10^8$ particules/ml, lot 120506). Chaque fenêtre a une longueur de $0,5 \mu\text{s}$ (200 points) et se déplace en $0,07 \mu\text{s}$ sur un range de $3,68 \mu\text{s}$ (50 positions). La position initiale de la fenêtre correspond à une fenêtre placée juste après de l'écho de la membrane de PVC. La valeur de chaque spectre est moyennée sur $M = 100$ acquisitions. La puissance du signal est présentée en dB (échelle à droite de chaque figure) relative à la valeur maximale de la puissance rétrodiffusée (figure 7.B) correspondant à 0 dB (rouge). La valeur minimale de -30 dB est en bleu.

Pour s'affranchir des phénomènes d'atténuation et de la divergence du faisceau, on a choisi d'enregistrer le signal provenant des premiers mm de la solution. La profondeur de la zone de diffuseurs est déterminée par le calcul du \overline{SNR}_p en fonction de la position de début de la fenêtre (figure 8). Une diminution de l'ordre de -6 dB (lignes rouges horizontales) permet de

fixer la taille maximale de la fenêtre à $\Delta = 1,33 \mu\text{s}$ (ligne rouge verticale), valeur qui équivaut à une profondeur de $L \approx 1 \text{ mm}$ dans l'eau pure ($c_{\parallel,0} = 1500 \text{ ms}^{-1}$), et qui sera respectée lors du traitement des données. Cette diminution peut être aussi observée sur la figure 7B.

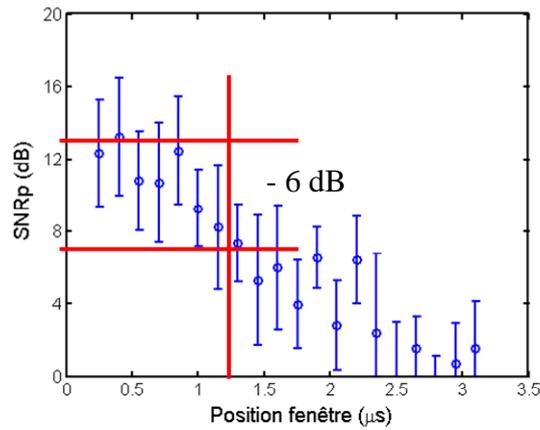


Figure 8 : Paramètre de rehaussement \overline{SNR}_p moyenné sur la bande passante du transducteur à - 3 dB ($\Delta = 200$ points, 20 positions, $M = 100$) en fonction de la position du début de la fenêtre (lot 120506).

1.3. Sédimentation. Mesures du rehaussement du signal rétrodiffusé par des particules d'ACU.

Dû à la masse du *PFOB* (1,93 g/ml) les particules d'*ACU* sédimentent en produisant une diminution de la concentration locale de particules, effet qui produit une réduction du rehaussement du signal \overline{SNR}_p lorsque le temps d'acquisition augmente. Cet effet a été déjà observé sur la figure 5A, ici nous pressentons une évaluation plus détaillée en utilisant les paramètres de traitement établies comme universelles: une bande passante à -3 dB, nombre de spectres $M = 100$ (approximativement 55 secondes d'acquisition) et une fenêtre type Hann de longueur $\Delta = 1,33 \mu\text{s}$.

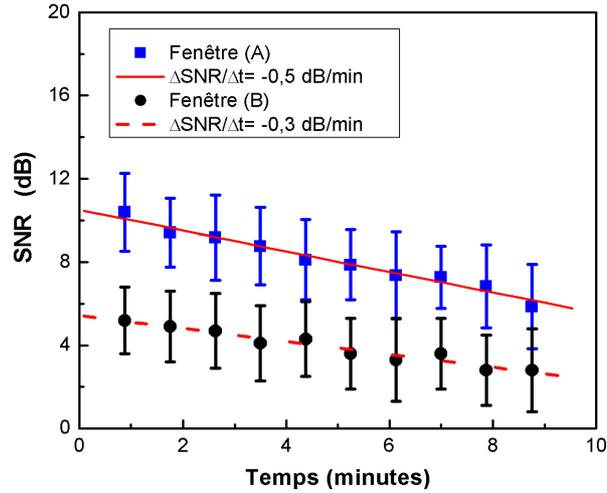


Figure 9 : SNR en fonction du temps d'acquisition pour une solution d'ACU de 10 mg/ml (lot 060606). Résultats en bleu correspondent à une fenêtre placée juste après de la membrane de PVC et ceux en noire à une fenêtre placée au fond de la cellule. Le temps total d'acquisition est de 9 minutes ce qui correspond à 1000 signaux acquis.

La figure 9 illustre la variation du \overline{SNR}_p en fonction du temps d'acquisition pour une solution d'ACU de $R = 3 \mu\text{m}$ et $T/R = 0,35$ ($T = 1,05 \mu\text{m}$) à une concentration de 10 mg/ml (lot 060606).

Les valeurs de \overline{SNR}_p sont extraites du signal rétrodiffusé pour deux positions distinctes de la fenêtre, ce qui définit l'origine spatiale du signal considéré. La fenêtre (A) est située juste après de l'écho de la membrane de PVC et délimite ainsi le signal diffusé par la partie supérieure de la solution. La fenêtre (B) est située avant l'écho du fond de la cellule.

La figure 10 montre l'évolution du $SNR_p(f)$ en fonction de la position du début de la fenêtre du type Hann aux temps $t = 1$ et 9 minutes (début et à la fin de la période d'acquisition). Les valeurs de $SNR_p(f)$ les plus élevées apparaissent pour la fenêtre localisée le plus près de la membrane de PVC (bas de la figure A). Cependant, ce phénomène n'est pas observé aussi clairement dans la figure (B), ce qui suggère la décantation des particules.

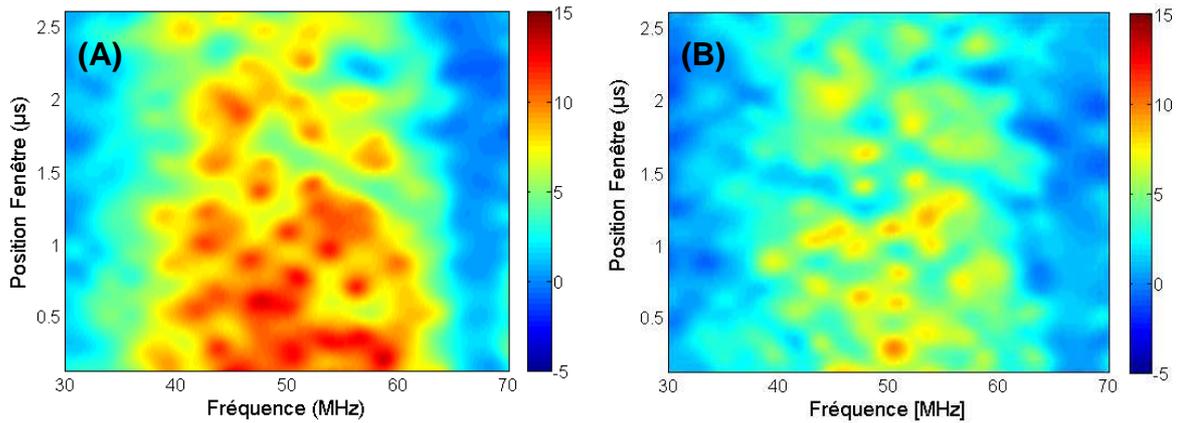


Figure 10 : $SNR_p(f)$ en fonction de la position de la fenêtre (début). (A) pour $t = 1$ minute. (B) pour $t = 9$ minutes. Le temps $t = 0 \mu s$ indique que la fenêtre est placée juste après de la membrane de PVC. Le rehaussement du signal est représenté en dB par l'échelle à droite de chaque figure, où la couleur rouge correspond à un rehaussement maximum de 15 dB.

La décantation est confirmée par l'observation de la solution au microscope optique inversé en mode transmission (Olympus IX 81, Japon, objectif de 60x) (figure 11).

Une petite quantité d'une solution d'ACU a été introduite dans une cavité de 3 mm de diamètre creusée dans une plaque acrylique de 5 mm d'épaisseur collée préalablement sur une lame porte-objet. L'objectif est focalisé sur la zone inférieure de la solution juste au-dessus de la lame porte-objet. Une caméra numérique (Olympus C-7070, 7,1 Mégapixels), couplée à la sortie vidéo du microscope, enregistre l'évolution de la population de particules. La figure 11 montre l'accumulation des particules d'ACU sur la lame porte-objet. L'intervalle entre chaque photo est de vingt secondes. La sédimentation ne fait aucun doute.

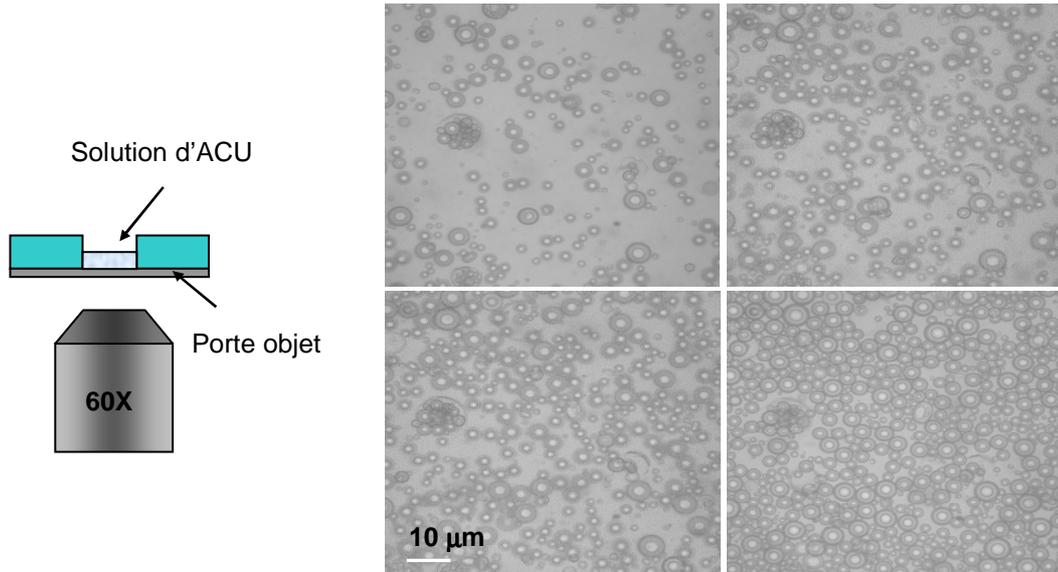


Figure 11 : Décantation de particules de $6 \mu\text{m}$ et $T/R = 0,35$ observée par microscopie optique inversée. L'intervalle de temps entre chaque image est de 20 s.

2. Caractéristiques du bruit

Le paramètre de rehaussement de contraste SNR_p utilise le bruit inhérent du système électronique d'acquisition comme signal de référence (équation 2.56). Il est donc important d'étudier ses caractéristiques, afin d'analyser son effet sur la reproductibilité des mesures de rehaussement de contraste et d'établir si le paramètre de rehaussement SNR_p peut être lié à un modèle de diffusion simple tel que la théorie de Faran pour les particules homogènes.

Premièrement, il est nécessaire d'établir si le bruit peut être traité comme un signal additif (équation 2.55), condition nécessaire pour avoir une convergence du type $SNR_p \rightarrow 0$ lorsque $C \rightarrow 0$. Dans ce cas la densité spectrale de puissance du signal rétro-diffusée est donnée par (équation 2.58):

$$PSD_s(f) = |v_{rd}(f)|^2 + |\zeta(f)|^2 + 2 \operatorname{Re} \left[\int_{-\infty}^{\infty} S_{\zeta, v_{rd}}(t) e^{-i\omega t} dt \right]$$

Les deux processus : diffusion et bruit son indépendantes, le troisième terme peut être éliminé :

$$PSD_s(f) = |v_{rd}(f)|^2 + |\zeta(f)|^2$$

La vérification expérimentale du caractère additif du bruit est en partie illustrée sur les figures 5A et 5B, où on observe que certains pics du spectre du bruit sont aussi présents dans le spectre du signal rétrodiffusé (à 41, 50, 62 et 68 MHz), effet également observé sur les figures 7A et 7B (pics entre 45-55 MHz à $2,5 \mu\text{s}$) (soustraire 5A - 5B)

Ce façon de modéliser le bruit permet de écrire le SNR_p comme :

$$SNR_p(f) = 10 \log_{10} \left\{ \frac{|v_{rd}(f)|^2 + |\zeta(f)|^2}{|\zeta'(f)|^2} \right\}$$

2.1. Différence entre ζ et ζ'

Lors des mesures du rehaussement de signal rétrodiffusé, les caractéristiques du bruit peuvent être affectées autant par les conditions expérimentales que par les conditions externes (électronique), de façon que $|\zeta'(f)|^2 \neq |\zeta(f)|^2$. Pour compenser tels effets, et s'assurer que le signal de référence corresponde à la mesure effectuée, celui-ci sera enregistré chaque fois qu'on caractérise une solution d'ACU (identifié par le numéro de lot). Alors on peut écrire :

$$SNR_p(f) = 10 \log_{10} \left\{ 1 + \frac{|v_{rd}(f)|^2}{|\zeta(f)|^2} \right\}$$

où le terme $|v_{rd}(f)|^2$ peut être bien lié avec un modèle de diffusion simple.

De plus, si le bruit électronique est traité comme un bruit blanc (aléatoire et stationnaire), la densité spectrale de puissance du bruit est constante (équation 2.57). Le paramètre de rehaussement peut être représenté par l'équation 2.59.

$$SNR_p(f) = 10 \log_{10} \left\{ 1 + \frac{2|v_{rd}(f)|^2}{\zeta_0} \right\}$$

2.2. Bruit blanc ?

Une question importante se pose : peut-on, dans nos expériences traiter le bruit comme un bruit blanc (équation 2.57) ? Pour y répondre considérons la figure 12A, on observe le spectre de puissance du signal de référence utilisé pour des différents lots d'ACU. La position de certains pics et vallées (flèches) est identique dans la plupart des spectres. Dès lors, on pourrait dire que les spectres présentent, indépendamment de la dispersion, le même type de bruit, et en conséquence le bruit ne possède pas les caractéristiques d'un bruit blanc. De même, sur la figure 12B, on observe que le changement de la position de la sonde (axes x, y) seulement l'amplitude de ces pics (figure 12B) est modifiée. Alors, la présence de ces pics peut être attribuée à l'existence d'autres sources (autre que des sources d'origine électronique), par exemple, sources du type acoustique, liées à la sonde ou à la cellule, qui génèrent des ondes

parasites. Cependant, puisqu'on s'intéresse à un comportement global du $SNR_p(f)$ autour de la bande passante de la sonde, il n'ait pas nécessaire d'avoir un bruit complètement aléatoire. La figure 12C montre la valeur de l'intégrale de la puissance du bruit (moyenne sur $M = 100$ spectres, bande passante à -3 dB) pour différents lots. Des variations de l'ordre de 50 % par rapport à la valeur moyenne (environ 0,8 ligne rouge continue) peuvent être observées. L'effet de ces variations sur la reproductibilité des mesures de rehaussement du signal sera évalué postérieurement (section 4.1.3).

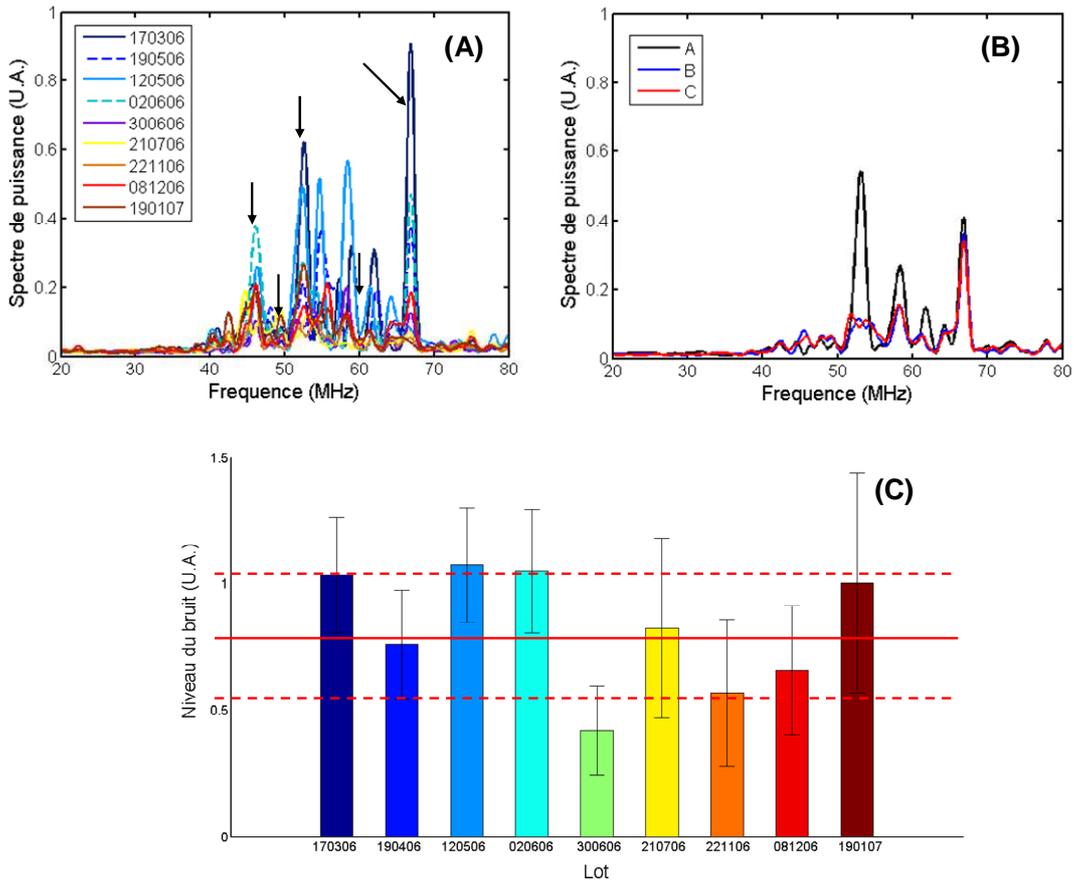


Figure 12 : Analyse des caractéristiques du bruit. (A) Spectres des signaux de référence pour différents lots d'ACU ($M = 100$, $\Delta = 1,33 \mu s$). (B) changement de la position de la sonde pour un même lot (060606). (C) valeur de l'intégrale des spectres de la figure A sur une bande passante à -3 dB, les barres d'erreurs correspondent à la dispersion statistique sur les 100 spectres. La ligne rouge continue représente la valeur moyenne du niveau du bruit et les lignes segmentées l'écart type.

3. Calculs complémentaires

3.1. Estimation des pertes de l'intensité incidente due à la divergence du faisceau acoustique

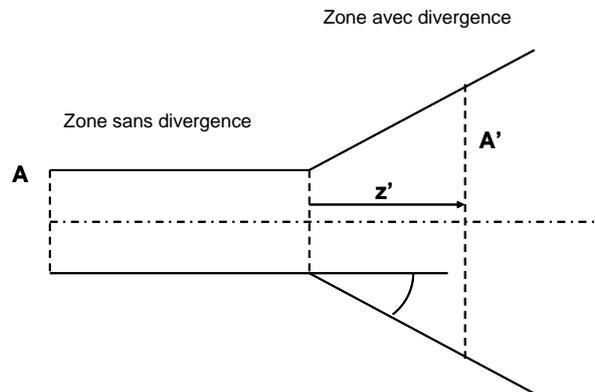


Figure 13 : Représentation du problème de pertes par divergence du faisceau acoustique

$$A = b^2 \pi$$

$$A' = (b + z' \tan \gamma)^2 \pi$$

En considérant que la puissance émise par la sonde est uniforme, dans la zone sans divergence l'intensité est égale $I = P/A$. Cependant, dans la zone avec divergence (caractérisée par l'angle γ) l'augmentation du diamètre de faisceau acoustique produit une diminution de l'intensité en $I' = P/A'$. La perte en fonction de la profondeur pour diverses angles est donnée par :

$$\frac{I'}{I} = \frac{1}{(1 + (z'/b) \tan \gamma)^2}$$

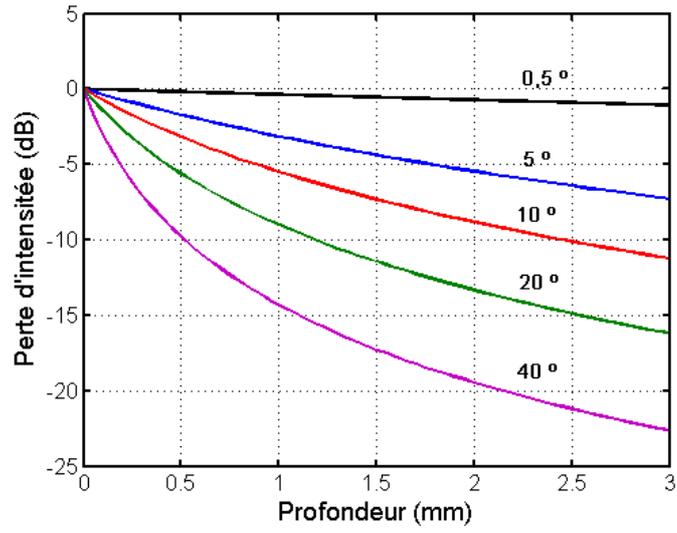


Figure 14 : Perte d'intensité en dB en fonction de la profondeur pour différents angles

Annexe 3 : ondes diffusées secondaires

Nous présentons ici un début d'analyse de l'origine des échos diffusés secondaires, phénomène observé dans l'étude *in silico* (chapitre 5) de la diffusion acoustique entre un disque isolé homogène ou d'ACU et une onde incidente de 50 MHz (2 cycles durée 0,04 μ s). Cette analyse est présentée pour des disques de rayons $R = 3$ et 10 μ m, avec un paramètre d'épaisseur de $T/R = 0, 0,35$ et 1.

Premièrement, nous montrons une séquence d'images du champ acoustique généré par simulation pendant le processus de diffusion, où les couleurs représentent les niveaux de contraintes T_{xx} ; le rouge identifiant la valeur maximale d'intensité (en module) et le bleu la valeur minimale (passage par zéro). Ces simulations, où les cartes utilisées sont plus petites que celle de l'étude du signal diffusé (chapitre 5), permettent de montrer les effets qui ont lieu à proximité et à l'intérieur du disque. Pour les disques de $R = 3$ μ m, on a utilisé une carte de 60 x 60 μ m avec un pas spatial de 0,1 μ m, les images sont acquises à 400 Hz et pour un temps de 0,14 μ s. Similairement, pour les disques de $R = 10$ μ m, on a utilisé une carte de 100 x 100 μ m avec la même résolution. La fréquence d'acquisition a été prise égale à 250 MHz et les images sont montrées pour un temps de 0,23 μ s.

Nous tentons d'expliquer les phénomènes observés sur ces images et sur les signaux diffusés correspondants (chapitre 5), en utilisant deux types de modèle. D'un côté, un modèle qui considère que la source des ondes diffusées secondaires est produite par la réémission d'ondes transmises et réfléchies à l'intérieur du disque, et un autre qui modélise la source d'ondes secondaires comme dues à l'interférence constructive entre les ondes de surface qui circulent autour du disque.

1 Réflexions internes et ondes de surface

Des études théoriques et expérimentales [1], [2] et [3], ont montré que, en plus de la réflexion spéculaire (écho diffusé principal), pendant le processus de diffusion, plusieurs autres phénomènes peuvent avoir lieu en produisant dans certains cas un train d'échos diffusés secondaires. D'une part, les ondes réfractées à l'intérieur de la particule peuvent ré-émerger soit immédiatement soit après une série de réflexions multiples, où particulièrement pour le cas de particules élastiques la conversion des modes peut être présente.

Par ailleurs, une façon intéressante de modéliser les phénomènes de propagation des ondes acoustiques à l'intérieur de particules de structures complexes consiste à représenter l'interaction entre le champ acoustique interne et celui du milieu externe sous la forme d'ondes de surfaces se propageant sur le pourtour de la particule, tout en prenant en compte les restrictions de continuité entre la particule et son milieu. Ainsi, sur l'interface milieu/particule, il

[1] Baddour R. E. et al., "High-frequency ultrasound scattering from microspheres and single cells," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 117, no. 2, pp. 934- 943, 2005.

[2] Herbert Überall, "Acoustic scattering from elastic cylinders and spheres: surface waves (Watson transform) and transmitted waves," *Traitement du signal*, Vol. 2, n°5, pp. 353-357, 1985.

peut se produire la formation d'ondes de surface, qui vont circuler autour de la particule pour interférer soit de façon constructive, soit de façon destructive, et ainsi former tout au long de la périphérie de la particule, des points de haute et de basse intensité, qui vont jouer le rôle de source d'ondes diffusées secondaires.

Dans les deux cas, réflexions internes et ondes de surface, les pertes par radiation et absorption (qui ne sont pas considérées dans le cas de notre étude) vont produire une réduction graduelle de l'intensité des échos diffusés secondaires.

1.1 Réflexions internes de premier ordre

Dans le cas des réflexions internes, nous allons évaluer la possibilité que des échos diffusés secondaires soient produits par les ondes qui re-émergent immédiatement de l'intérieur du disque. Dans une première approche, ce problème est équivalent à celui qui considère l'incidence normale ($\theta_i^0 = 0$) d'une onde sur une paroi d'épaisseur $2R$, qui dans le cas d'un disque d'ACU va avoir dans leur intérieur deux interfaces (figure 1). Les interférences entre les réflexions de premier ordre sur ces interfaces seront montrées sur un diagramme temps v/s parcours, en considérant que l'onde incidente est une impulsion de 2 cycles (d'une durée de $0,04 \mu s$).

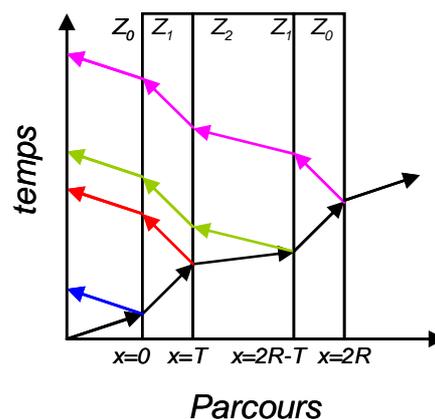


Figure 1 : Réflexions internes de premier ordre dans une paroi PLGA-PFOB-PLGA. Impédances acoustiques : $Z_0 = EAU$, $Z_1 = PLGA$ et $Z_2 = PFOB$.

A cause de la taille de disque et plus spécifiquement de l'épaisseur de la coque de PLGA, les pertes d'intensité dues aux changements d'impédance acoustique ne peuvent pas être calculées de la façon habituelle (i.e. en considérant dans chaque interface l'onde incidente, transmise et réfléchi) et devront être analysées postérieurement.

Pour les autres angles, il serait nécessaire de considérer l'effet de la courbure du disque, qui agit comme une lentille (figure 2). Dans le cas de disques homogènes, l'angle de transmission diminue si le disque est composé du liquide PFOB (lentille convergente) et augmente si le disque est composé de PLGA (lentille divergente). Ainsi, dans le cas de PFOB, on devrait d'observer une focalisation des ondes dans l'extrême opposée à la zone d'impact (face postérieure), et postérieurement une focalisation de plus basse intensité dans la zone d'impact

[3] Brill D., Gaunard G., and Uberall H., "The response-surface in elastic wave scattering," J. Appl. Phys.,

(face antérieure). Dans le cas du *PLGA*, on devrait d'observer une augmentation des réflexions internes.

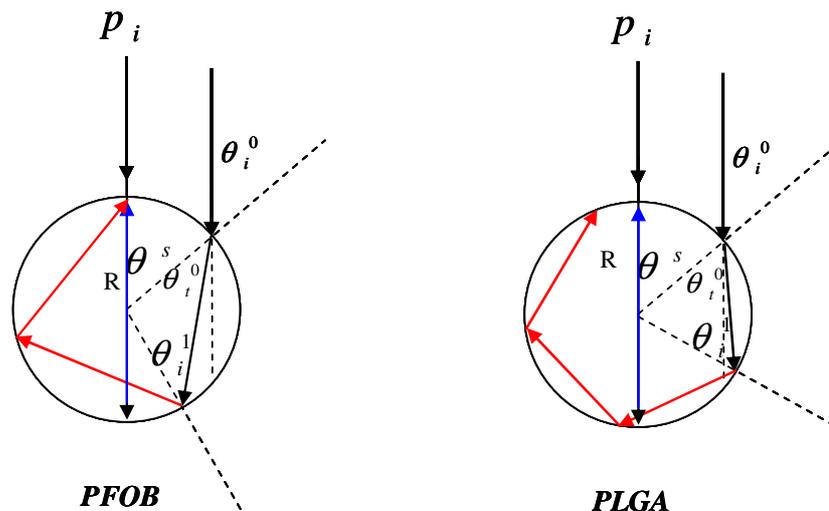


Figure 2 : Réflexions internes dans un disque homogène de PFOB (gauche) et dans autre de PLGA (droite). La variation de la vitesse, produit dans le cas du PFOB une diminution de l'angle de transmission et une augmentation pour le PLGA, en augmentant ainsi le nombre de réflexions internes (lignes en rouge) dans le cas du PLGA. Les lignes bleues représentent les réflexions directes, cas analysé ici.

1.2 Ondes de surface

Dans le cas d'ondes de surface, nous allons considérer la circulation dans des sens opposés de deux ondes (figure 3), qui peuvent interférer soit de façon constructive ou destructive. Le temps de propagation de ces ondes, mesuré à partir de l'arrivée sur la particule de l'onde incidente, sera montré en fonction de l'angle ayant comme origine la position à laquelle arrive l'onde incidente $\theta^s = 0$ ($\theta^s = \theta - \pi$, θ : angle de diffusion). La vitesse de propagation, c_s , sera ici prise égale à la vitesse longitudinale du matériel duquel est composé le disque (seul homogène), de façon à ce que le temps de parcours soit égal à $\theta^s R / c_s$.

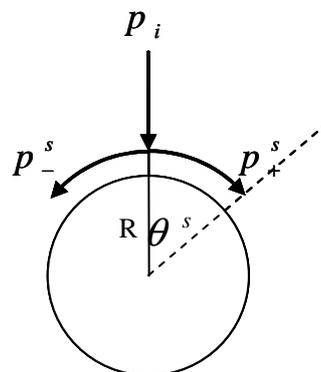


Figure 3 : Interférence des ondes de surface.

Les interférences commencent à partir du temps $\pi R/c_s$ correspondant au premier croisement des ondes, $\theta^s = \pm\pi$. Évidemment, le deuxième croisement va apparaître au temps $2\pi R/c_s$, ainsi, si le temps $\pi R/c_s$ est plus grand que la durée du signal, on devrait d'observer des interférences constructives bien marquées aux angles $\theta^s = 0$ et $\pm\pi$, qui vont former deux sources d'ondes diffusées secondaires. Si la taille du disque commence à diminuer ou la vitesse de surface à augmenter alors le temps $\pi R/c_s$ diminue, et on devrait d'observer l'apparition des phénomènes d'interférence le long de toute l'interface disque/milieu, dans ce cas il existera plusieurs sources secondaires, qui vont produire des échos diffusés de plus faible amplitude.

Si on considère, que la source des ondes secondaire est produite par des interférences constructives aux angles $\theta^s = 0$ et $\pm\pi$, on peut considérer que le train d'échos secondaires va être généré par deux sources ponctuelles placées dans les extrêmes opposées du disque (figure 4). Alors, la forme du train d'échos secondaires va dépendre de la différence de phase entre ces deux sources, $\Delta t_s = \pi R/c_s \rightarrow \Delta\phi_s = \pi Rk$, et de la différence du temps d'arrivée au récepteur, destiné à recevoir le signal rétrodiffusé (équations 1.3). Ce phénomène peut aussi expliquer la différence entre la forme du train d'échos diffusés aux angles de diffusion $\theta = 3\pi/4$ et $\pi/2$ (chapitre 5).

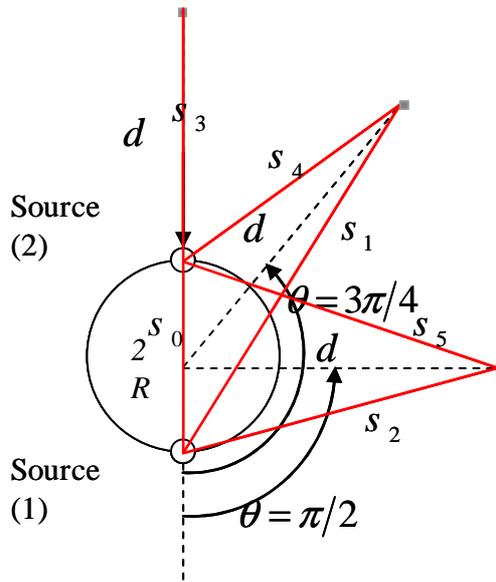


Figure 4 : Sources secondaires (1) à $\theta = \pi/2$ et (2) à $\theta = \pi$. La forme du train des échos diffusés secondaires reçue par un senseur placé à une distance du centre du disque est affectée par la position de ces deux sources (lignes rouges) et leur différence de phase.

Les distances entre la source secondaire (1) et les barrettes réceptrices placées à une distance d du centre du disque aux angles de diffusion $\theta = \pi, 3\pi/4$ et $\pi/2$ sont respectivement :

$$\begin{aligned} s_0 &= d + R \\ s_1 &= \sqrt{d^2 + R^2 + 2Rd \sin \pi/4} \\ s_2 &= \sqrt{d^2 + R^2} \end{aligned}$$

Similairement pour la source (2) :

$$\begin{aligned}
s_3 &= d - R \\
s_4 &= \sqrt{d^2 + R^2 - 2Rd \sin \pi/4} \\
s_5 &= s_2
\end{aligned}$$

Les retards relatifs entre les ondes produites par ces des sources aux 3 angles de diffusion sont donnés alors par :

$$\begin{aligned}
\Delta t_\pi &= \frac{2R}{c_{\text{disque}}} + \frac{d-R}{c_{\text{eau}}} - \frac{d-R}{c_{\text{eau}}} = \frac{2R}{c_{\text{disque}}} \\
\Delta t_{3\pi/4} &\approx \frac{s_1 - s_4}{c_{\text{eau}}} \\
\Delta t_{\pi/2} &= 0
\end{aligned}$$

1.3 Implémentation

Les deux modèles ont été implémentés sous Matlab[®], en considérant une onde unidimensionnelle monochromatique de 2 cycles, d'amplitude unitaire, et limitée par une enveloppe gaussienne de facteur σ qui se déplace à la même vitesse que l'onde :

$$\psi_{i,j} = \sin(\omega t_i \pm kx_j - \phi) e^{-\frac{(\omega t_i \pm kx_j - \phi)^2}{\sigma^2}}$$

Le terme ϕ permet d'en fixer la phase initiale.

Par exemple, dans le cas des ondes de surface, on veut produire un diagramme d'interférences dans le domaine de l'angle θ^s en fonction du temps. On considère alors deux ondes (figure 3) se propageant en direction angulaires opposées :

$$p_+^S = \psi_{i,j}^{(1)} = \sin(\omega t_i - kR\theta_j^s - \phi_1) e^{-\frac{(\omega t_i - kR\theta_j^s - \phi_1)^2}{\sigma^2}}$$

$$p_-^S = \psi_{i,j}^{(2)} = \sin(\omega t_i + kR\theta_j^s - \phi_2) e^{-\frac{(\omega t_i + kR\theta_j^s - \phi_2)^2}{\sigma^2}}$$

Avec $k = 2\pi f / c_s$, $\phi_1 = 2\pi - kR\pi$ et $\phi_2 = 2\pi + kR\pi$. Ces deux derniers termes permettent de fixer la position initiale des ondes partiales à l'angle $\theta^s = 0$.

Ces deux ondes génèrent la première partie du diagramme jusqu'au temps $\pi R / c_s$. Au-delà, il est nécessaire de considérer deux ondes qui se forment de façon itérative pendant $n\delta / \omega \leq t_{\text{max}}$ ($n = 1, 2, 3, \dots$):

$$M_{i,j,n}^{(1)} = M_{i,j,n-1}^{(1)} + \sin(\omega t_i - kR\theta_j^s - (\phi_1 + 2n\delta)) e^{-\frac{(\omega t_i - kR\theta_j^s - (\phi_1 + 2n\delta))^2}{\sigma^2}}$$

$$M_{i,j,n}^{(2)} = M_{i,j,n-1}^{(2)} + \sin(\omega t_i + kR\theta_j^s - (\phi_2 + 2n\delta)) e^{-\frac{(\omega t_i + kR\theta_j^s - (\phi_2 + 2n\delta))^2}{\sigma^2}}$$

Avec $M_{i,j,1}^{(1)} = M_{i,j,1}^{(2)} = 0$ et $\delta = kR\pi$.

Le diagramme est alors finalement formé par la superposition :

$$M_{i,j} = M(t, \theta^s) = M_{i,j}^{(1)} + M_{i,j}^{(2)} + \psi_{i,j}^{(1)} + \psi_{i,j}^{(2)}$$

Le diagramme d'interférence des ondes internes est formé d'une façon similaire. Dans les figures nous allons montrer l'intensité $|M_{i,j}|^2$, et les profils de l'amplitude à un angle $\theta^s = 0$ et pour une distance $x = d$.

2 Résultats

2.1 Disque isolé de PFOB de $R = 3 \mu\text{m}$ avec $T/R = 0$

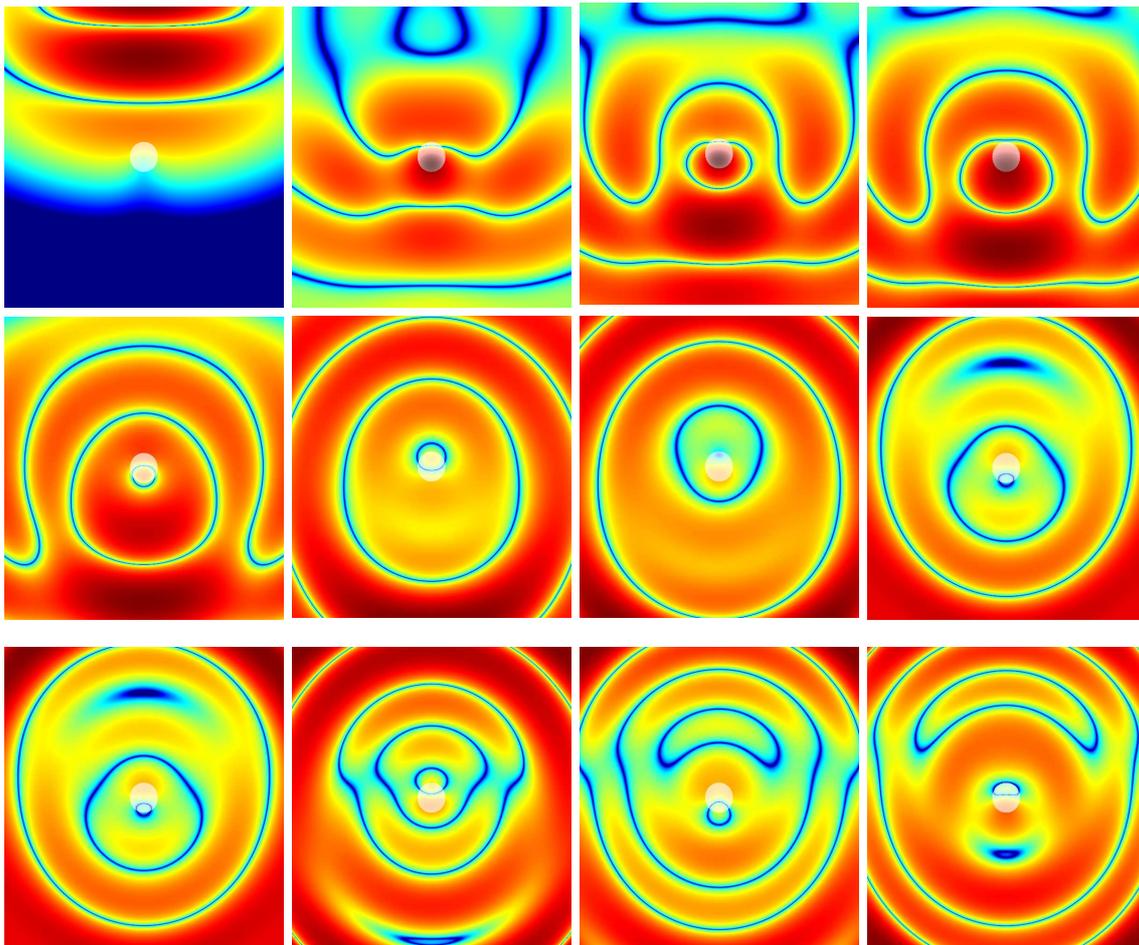


Figure 5 : Instantanés du film. Champ des contraintes (valeur absolue) pour une carte de $60 \times 60 \mu\text{m}$ (résolution de $0,1 \mu\text{m}$) avec un disque de PFOB ($T/R = 0$) et de rayon $R = 3 \mu\text{m}$ placé au centre du domaine. La couleur rouge indique la valeur maximale (crêtes ou vallées) alors que le bleu indique la valeur minimale (passage par zéro).

Dans les trois premières images, on observe une déformation du front d'onde incident, qui produit une concentration des contraintes dans la position opposée à la zone d'impact du front d'onde, générant ainsi une source secondaire (images 3 et 4). Dans ces premières images, on n'arrive pas à distinguer l'onde diffusée principal de celle générée par la source secondaire. Dans l'image 6, la formation d'une autre source semble apparaître, cette fois dans la zone d'impact. Le processus de formation alterne de ces deux sources secondaires, est visible dans les images postérieures, où dans certains cas (images 8 et 9) on arrive à observer des phénomènes d'interférence destructive. Ce dernier comportement n'est pas observé clairement

dans les images postérieures, on ne peut donc pas affirmer que c'est la cause du signal enregistré par la barrette réceptrice 1 (figure 6).

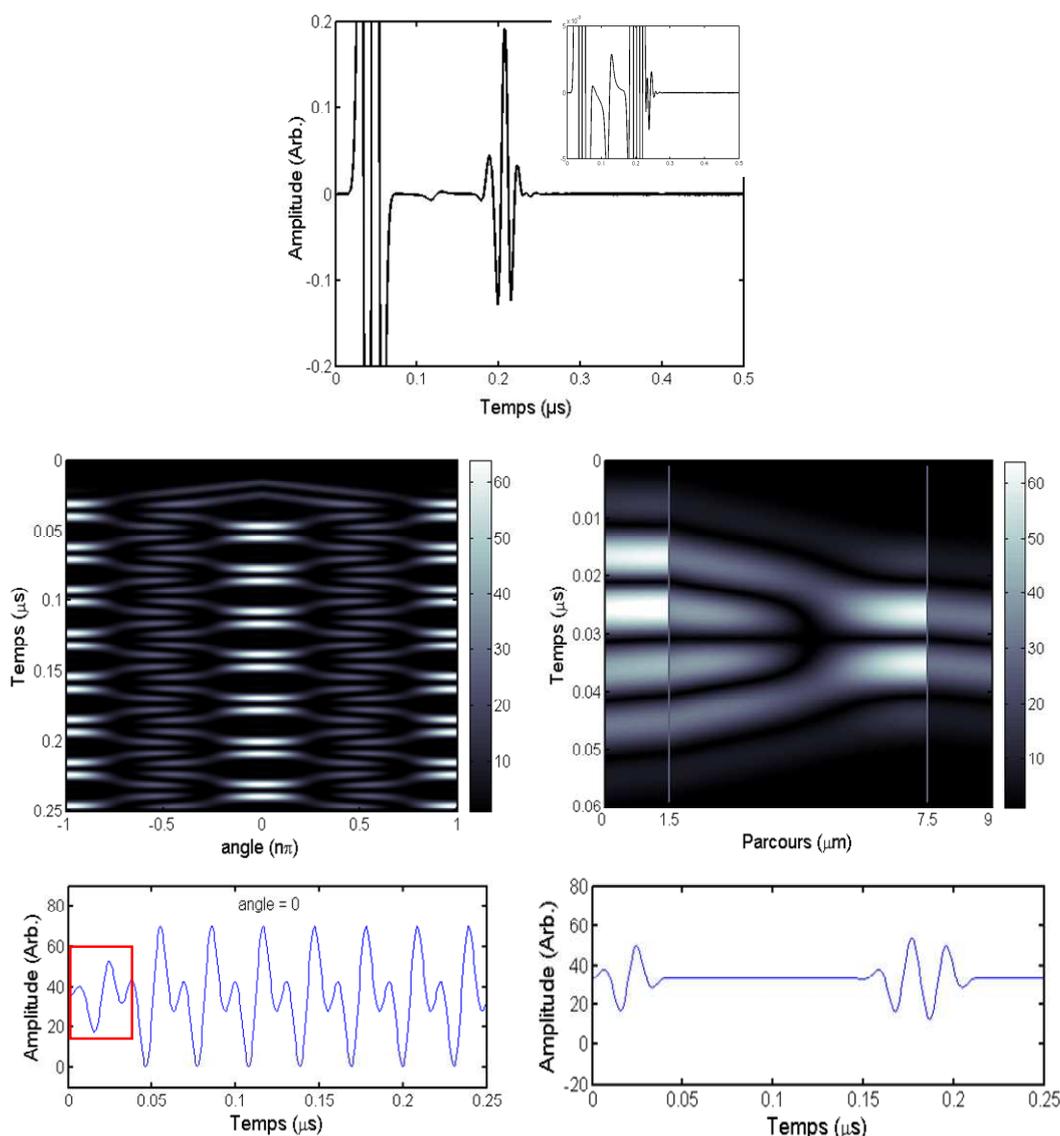


Figure 6 : *Rétrodiffusion par un disque de PFOB ($T/R = 0$) de rayon $R = 3 \mu\text{m}$. En haut : signal rétrodiffusé acquis par une barrette ponctuelle placée en $\theta = \pi$ à $d = 114 \mu\text{m}$ du centre du disque (simulation avec une carte type B, chapitre 5). À gauche au centre : diagramme d'interférence de deux ondes de surface (vitesse des ondes de surface ; $c_s = c_{\text{PFOB}}$), qui se propagent en sens opposés à partir du temps d'arrivée du front d'onde (figure 3). À droite au centre : diagramme d'interférence des réflexions internes de premier ordre pour une incidence normale ($\theta_i^0 = 0$) sans avoir tenu compte des changements d'impédance aux interfaces (lignes verticales) à $x = 1,5 \mu\text{m}$ (EAU/PFOB) et $x = 7,5 \mu\text{m}$ (PFOB/EAU). En bas à gauche : profil du diagramme d'interférence des ondes de surface à l'angle $\theta^s = 0$, le premier signal correspond à l'onde incidente (cadre rouge). En bas à droite : profil du diagramme d'interférence des réflexions internes à une distance équivalente à la position de la barrette réceptrice ($d = 114 \mu\text{m}$).¹*

À partir des profils d'interférence des ondes des surfaces aux angles $\theta^s = 0$ et π , on peut reconstruire la forme du train d'échos diffusés secondaires à une distance d du centre du disque². La méthode consiste en sommer ces deux profils, qui correspondent aux ondes

¹ Dans les diagrammes des interférences l'échelle latérale représente l'intensité en unités arbitraires, pendant que dans les profils (extraction d'une ligne verticale des diagrammes) l'échelle représente l'amplitude.

² Cette reconstruction n'inclue pas l'écho diffusé principal (réflexion spéculaire).

diffusés secondaires par les deux sources (2) et (1) respectivement (figure 4), en considérant les retards associés à la position relative entre les sources et les barrettes réceptrices (équations 1.3). Dans le cas d'un angle de diffusion $\theta = \pi$ le retard est égal à $\Delta t_{\pi} = 2 R / c_{disque}$.

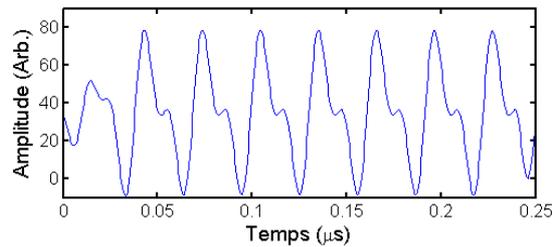


Figure 7 : Reconstruction du signal rétrodiffusé (angle de diffusion $\theta = \pi$) à partir de la somme des profils d'interférences des deux ondes de surface aux angles $\theta^s = 0$ et π pour le disque de PFOB ($T/R=0$) de rayon $R = 3 \mu m$.

Dans le diagramme des ondes de surface de la figure 6 (à gauche), on observe que les interférences ne sont pas bien focalisées autour des angles $\theta^s = 0$ et π , ce qui est compatible avec ce qui est observé sur les instantanés (figure 5). Cependant, on n'observe pas d'interférence destructive totale entre les ondes diffusées générées par les deux sources secondaires (figure 7), qui permettrait d'expliquer la complète extinction des ondes secondaires dans le signal rétrodiffusé (figure 6, en haut). Cette différence peut être due à une mauvaise estimation de la valeur de la vitesse de propagation d'ondes de surface, qui a été prise ici égale à la vitesse de propagation dans le PFOB.

Le diagramme de réflexions internes (figure 6, à droite) montre que l'écho réfléchi par l'interface EAU/PFOB interfère partiellement avec celui en provenance de l'interface PFOB/EAU, en déformant le signal. En effet, on peut y constater une augmentation du nombre de cycles de l'impulsion et une faible augmentation de l'amplitude.

2.2 Disque isolé d'ACU de $R = 3 \mu\text{m}$ avec $T/R = 0,35$

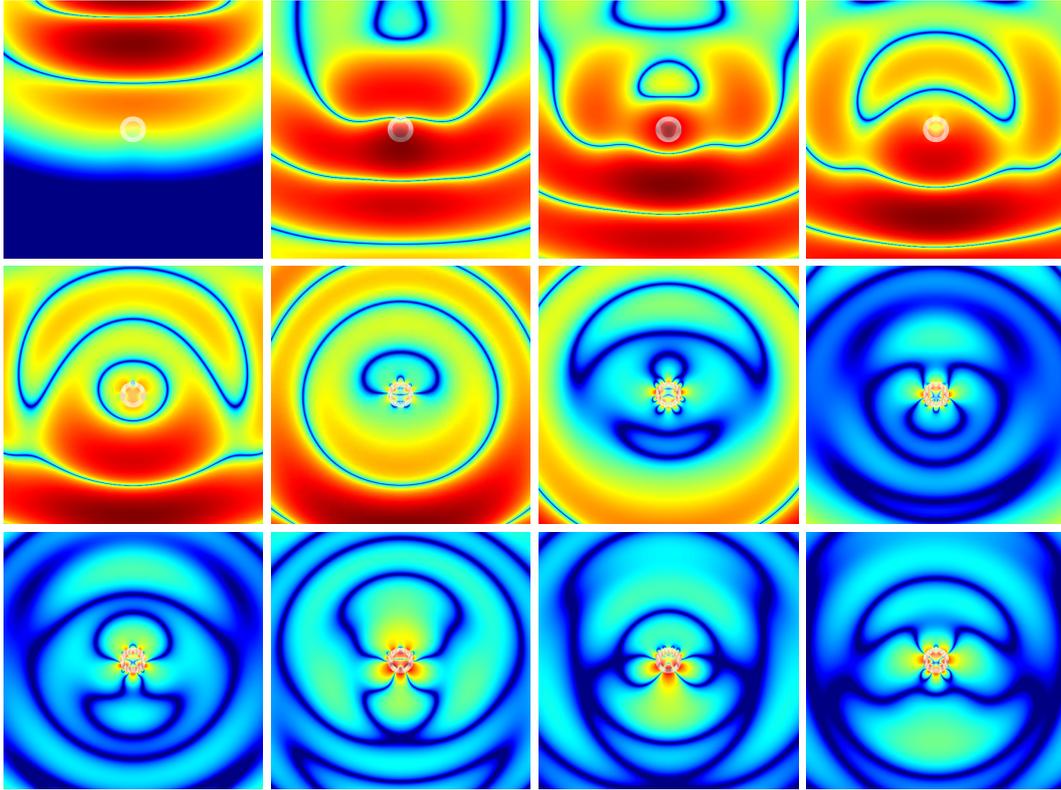


Figure 8 : Instantanés du film. Champ des contraintes (valeur absolue) pour une carte de $60 \times 60 \mu\text{m}$ (résolution $0,1 \mu\text{m}$) avec un disque d'ACU ($T/R = 0,35$) et de rayon $R = 3 \mu\text{m}$ placé au centre du domaine. La couleur rouge indique la valeur maximale (crêtes ou vallées) et le bleu la valeur minimale (passage par zéro).

Dans ce cas, on observe que le disque ne déforme que faiblement le front d'onde incident. Sur les premières images, on observe clairement la formation de l'écho diffusé principale (images 4 à 7). En même temps on peut constater que les ondes rémanentes à l'intérieur du disque interfèrent pour former de multiples sources secondaires le long de l'interface disque/milieu externe. Ce phénomène est plus facilement observable à partir de la fin de l'écho diffusé principale (image 6-7). Les ondes diffusées par ces sources ont une faible intensité, probablement due aux phénomènes d'interférence.

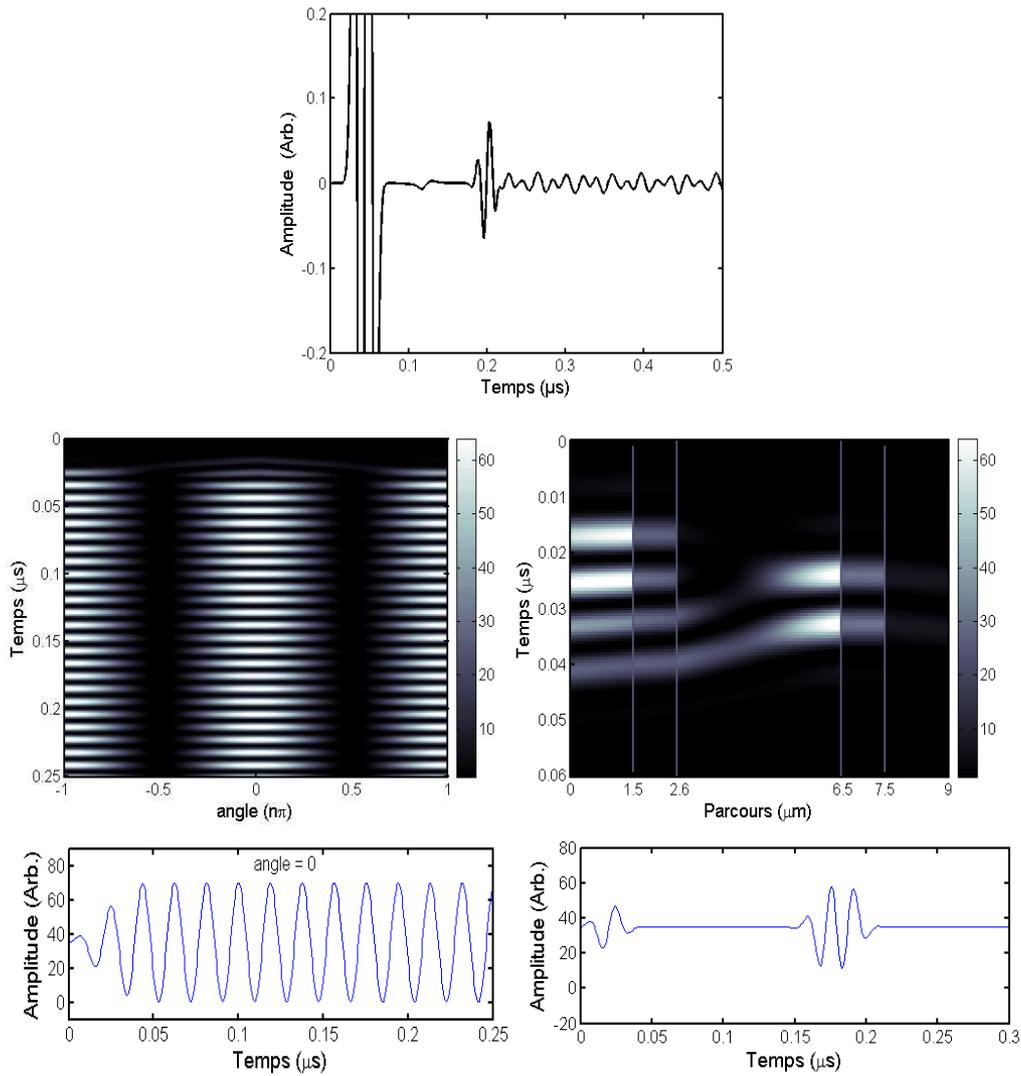


Figure 9 : Rétrodiffusion par un disque d'ACU ($T/R = 0,35$) de rayon $R = 3 \mu\text{m}$.

En haut : signal rétrodiffusé acquis par une barrette ponctuelle placée en $\theta = \pi$ à $d = 114 \mu\text{m}$ du centre du disque (simulation avec une carte type B, chapitre 5). À gauche au centre : diagramme d'interférence des deux ondes de surface (vitesse $c_s = 1 \text{ mm}/\mu\text{s}$), qui se propagent en sens opposés à partir du temps d'arrivée du front d'onde (figure 3). À droite au centre : diagramme d'interférence des réflexions internes de premier ordre pour une incidence normale ($\theta_i^0 = 0$) sans avoir tenu compte des changements d'impédance aux interfaces (lignes verticales); $x = 1,5 \mu\text{m}$ (EAU/PLGA), $x = 2,6 \mu\text{m}$ (PLGA/PFOB), $x = 6,5 \mu\text{m}$ (PFOB/PLGA) et $x = 7,5 \mu\text{m}$ (PFOB/EAU). En bas à gauche: profil du diagramme d'interférence des ondes de surface à l'angle $\theta^s = 0$, le premier signal correspond à l'onde incidente. En bas à droite : profil du diagramme d'interférence des réflexions internes à une distance équivalente à la position de la barrette réceptrice ($d = 114 \mu\text{m}$).

Parce que nous avons choisi une vitesse de surface plus grande que la vitesse de PFOB, nous observons dans le diagramme des ondes de surface (figure 9, à gauche) une diminution du temps entre les interférences aux angles $\theta^s = 0$ et π . Dans ce cas, nous avons montré qu'il devrait être moins probable d'observer des échos rétrodiffusés secondaires bien séparés, ce qui est compatible avec les instantanés du film (figure 8), où on peut constater la formation de multiples sources secondaires dans toute l'interface particule milieu. Les ondes secondaires produites par ces sources ont une faible intensité, en accord avec le signal rétrodiffusé observée dans les simulations (figure 9 en haut). Néanmoins, même si le temps entre les interférences aux angles $\theta^s = 0$ et π est inférieur au cas précédent, ces échos n'interfèrent

pas de façon destructive (figure 10), ce qui ne permet pas d'expliquer l'extinction partielle des échos diffusés secondaires observée dans le signal rétrodiffusé (figure 9, en haut). Cette différence peut être due au fait d'avoir pris uniquement les sources secondaires aux angles $\theta^s = 0$ et π .

Similairement au cas du disque de *PFOB* pur, le diagramme de réflexions internes (figure 9, à droite), ne montre pas de séparation entre les échos réfléchis par les différentes interfaces du disque. Le profil du signal reçu à $x = d$ montre également une déformation qui produit une augmentation du nombre de cycles. Cependant, l'amplitude est relativement plus forte que dans le cas précédent, dû au plus grand nombre d'interfaces concernés.

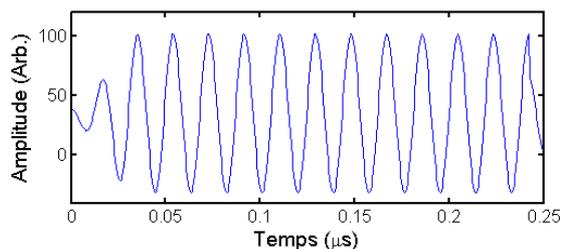


Figure 10 : Reconstruction du signal rétrodiffusé (angle de diffusion $\theta = \pi$) à partir de la somme des profils d'interférences des deux ondes de surface aux angles $\theta^s = 0$ et π pour le disque d'ACU ($T/R = 0,35$) de rayon $R = 3 \mu\text{m}$.

2.3 Disque isolé de PLGA de $R = 3 \mu\text{m}$ avec $T/R = 1$

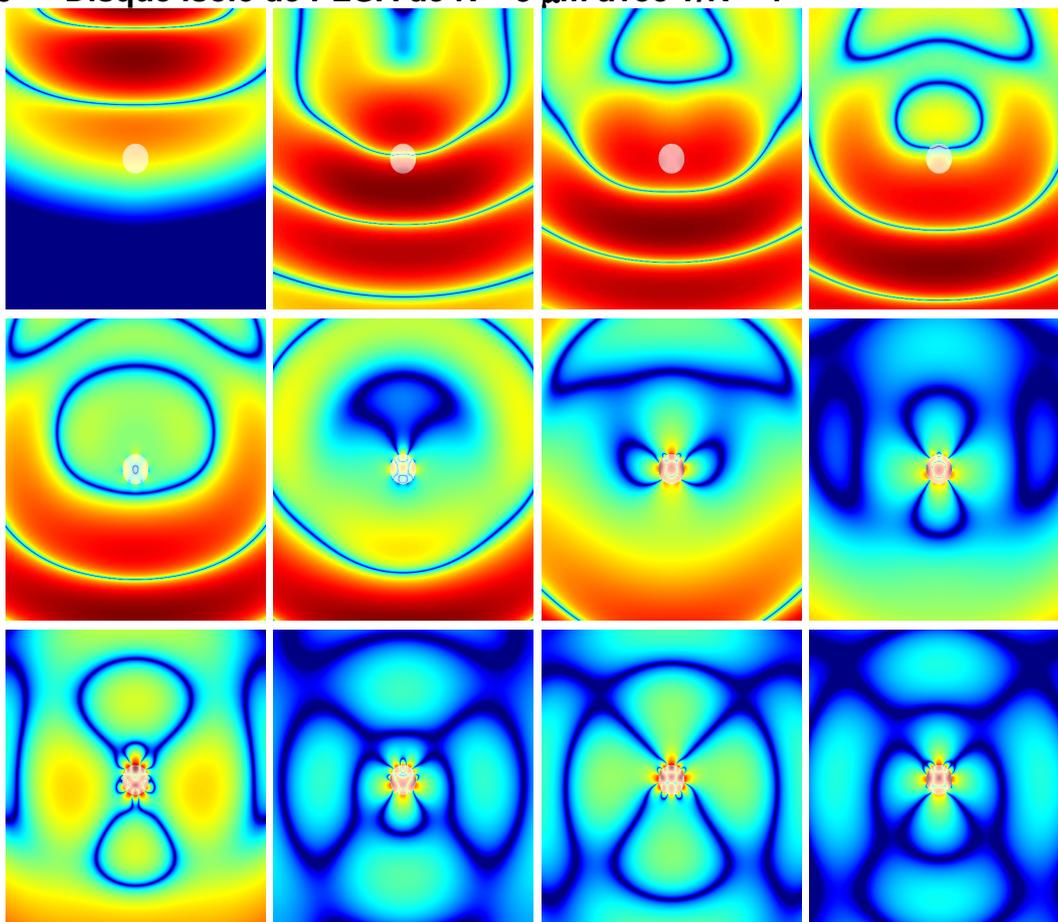


Figure 11 : Instantanés du film. Champ des contraintes (valeur absolue) pour une carte de $60 \times 60 \mu\text{m}$ (résolution $0,1 \mu\text{m}$) avec un disque de PLGA ($T/R = 1$) et de rayon $R = 3 \mu\text{m}$ placé au centre du domaine. La couleur rouge indique la valeur maximale (crêtes ou vallées) alors que le bleu indique la valeur minimale (passage par zéro).

Ce cas est pratiquement similaire à celui observé pour le disque d'ACU. Les contraintes sont très élevées (sur l'interface particule/milieu) aux abords immédiats du disque mais montre un champ acoustique apparemment faible dû à l'interférence destructive des ondes émises par ces sources intenses.

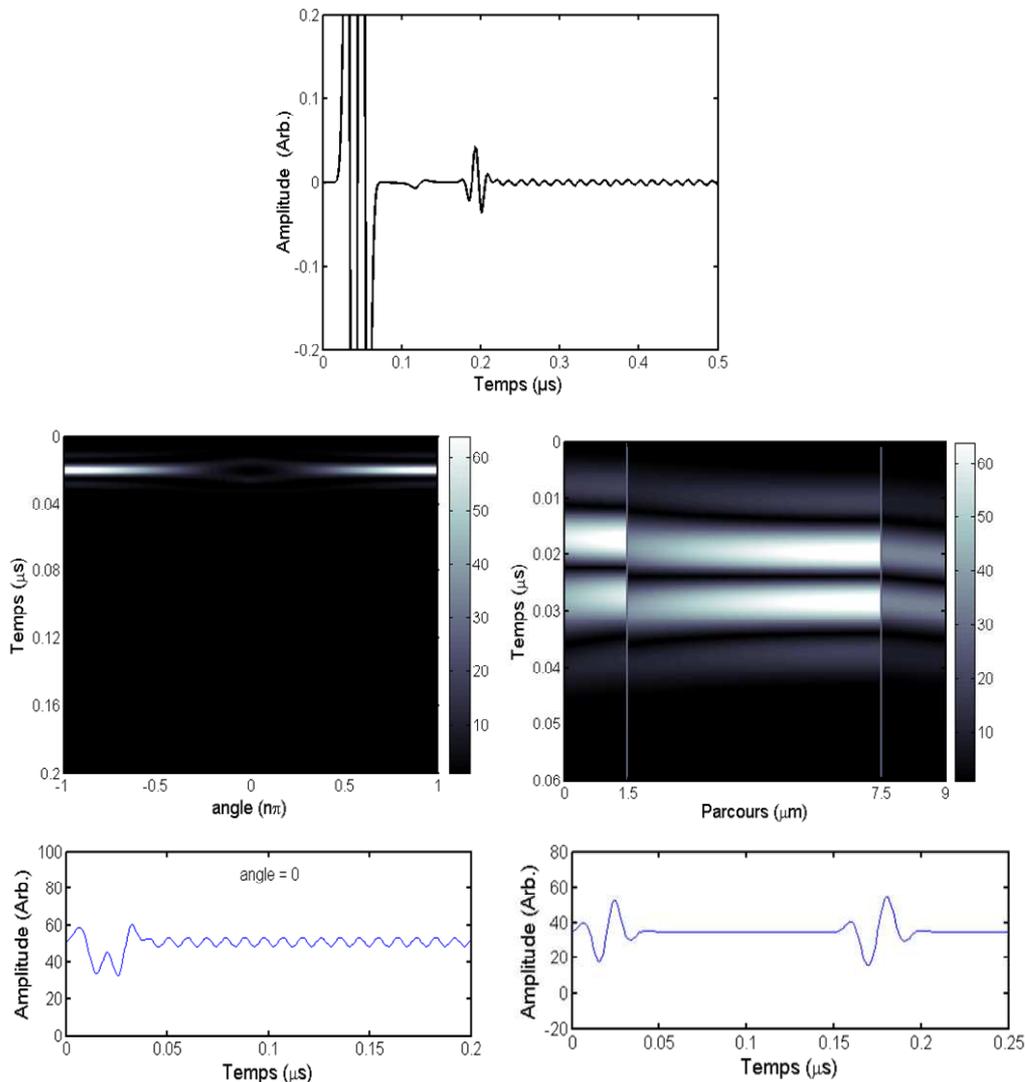


Figure 12 : Rétrodiffusion par un disque de PLGA ($T/R = 1$) de rayon $R = 3 \mu\text{m}$.

En haut : signal rétrodiffusé acquis par une barrette ponctuelle placée en $\theta = \pi$ à $d = 114 \mu\text{m}$ du centre du disque (simulation avec une carte type B, chapitre 5). À gauche au centre : diagramme d'interférence des deux ondes de surface (vitesse $c_s = c_{PLGA}$), qui se propagent dans des sens opposés à partir du temps d'arrivée du front d'onde (figure 3³). À droite au centre : diagramme d'interférence des réflexions internes de premier ordre pour une incidence normale ($\theta_i^0 = 0$) sans avoir tenu compte des changements d'impédance aux interfaces (lignes verticales) ; $x = 1,5 \mu\text{m}$ (EAU/PLGA) et $x = 7,5 \mu\text{m}$ (PLGA/EAU). En bas à gauche : profilé du diagramme d'interférence des ondes de surface à l'angle $\theta^* = 0$, le premier signal correspond à l'onde incidente. En bas à droite : profil du diagramme d'interférence des réflexions internes à une distance équivalente à la position de la barrette réceptrice ($d = 114 \mu\text{m}$).

³ Ici, l'amplitude de l'écho principal diffusé est inférieure à celle présentée au paragraphe 2.1. En effet, les propriétés mécaniques de PFOB et PLGA ont été choisies de façon à ce que l'échogénicité des particules de PFOB soit supérieure à celles des particules de PLGA. La différence de forme du signal diffusé secondaire est sans doute liée à la différence du comportement des ondes à l'interface PFOB/EAU et PLGA/EAU (d'épaisseur T).

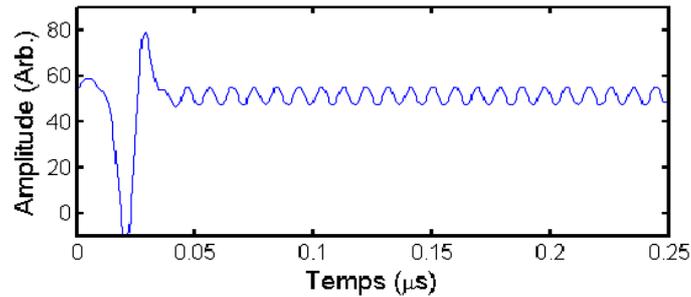


Figure 13 : Reconstruction du signal rétrodiffusé (pour un angle de diffusion $\theta = \pi$) à partir de la somme des profils d'interférences des deux ondes de surface aux angles $\theta^s = 0$ et π pour le disque de PLGA ($T/R = 1$) de rayon $R = 3 \mu\text{m}$.

On observe dans la figure 13 une extinction presque complète des interférences des ondes de surface, ce qui est compatible avec la forme du signal rétrodiffusé obtenue des simulations (figure 12, en haut). Cependant, le diagramme d'interférences (figure 12, droite centre) n'est pas compatible avec les instantanés du film (figure 11), où on observe une concentration élevée des niveaux des contraintes au long de toute l'interface milieu particule.

Dans le cas des réflexions internes (figure 12, à droite), on observe que les ondes à l'intérieur du disque interfèrent pour produire un seul front d'onde. Le profil à $x = d$ montre un signal presque inaltéré sans variations apparentes en forme et amplitude.

2.4 Disque isolé de PFOB de $R = 10 \mu\text{m}$ avec $T/R = 0$

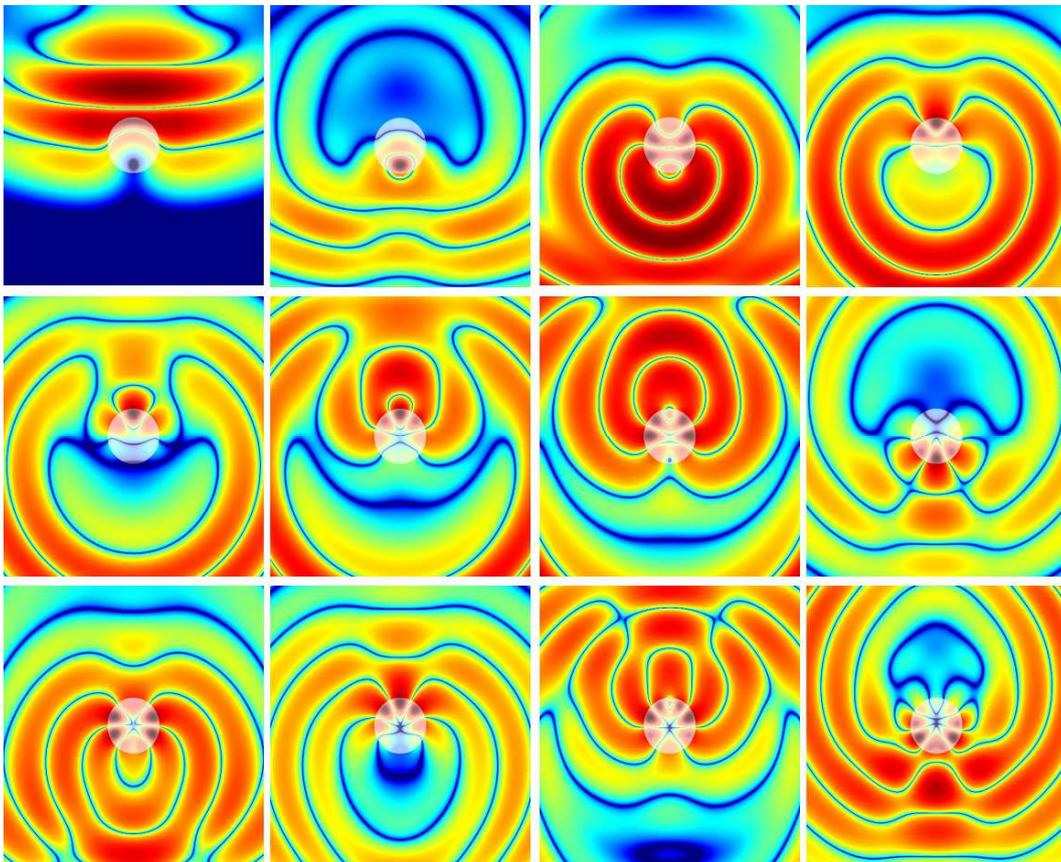


Figure 14 : Instantanés du film. Champ des contraintes (valeur absolue) pour une carte de $100 \times 100 \mu\text{m}$ (résolution $0,1 \mu\text{m}$) avec un disque de PFOB ($T/R = 0$) et de rayon $R = 10 \mu\text{m}$ placé au centre du domaine. La couleur rouge indique la valeur maximale (crêtes ou vallées) tandis que le bleu indique la valeur minimale (passage par zéro).

Sur les deux premières images, on observe la formation d'une concentration de contraintes (ou pression) proche de la face postérieure de la particule, opposée au point d'impact sur lequel arrive initialement l'onde incidente. Postérieurement, dans les deux images suivantes on observe que ce point de haute intensité devient la source d'une onde diffusée secondaire progressive ainsi que la formation d'un autre point source de haute intensité proche de la face antérieure du disque (images 4 et 5), qui postérieurement produit une onde diffusée secondaire rétrograde détectée par le détecteur « 1 » (Images 6-7). La formation de ces points source de haute intensité et la postérieure génération d'une onde secondaire diffusée, se répète périodiquement au cours de la simulation, en suivant une forme de battement en direction parallèle et antiparallèle à la propagation de l'onde initiale.

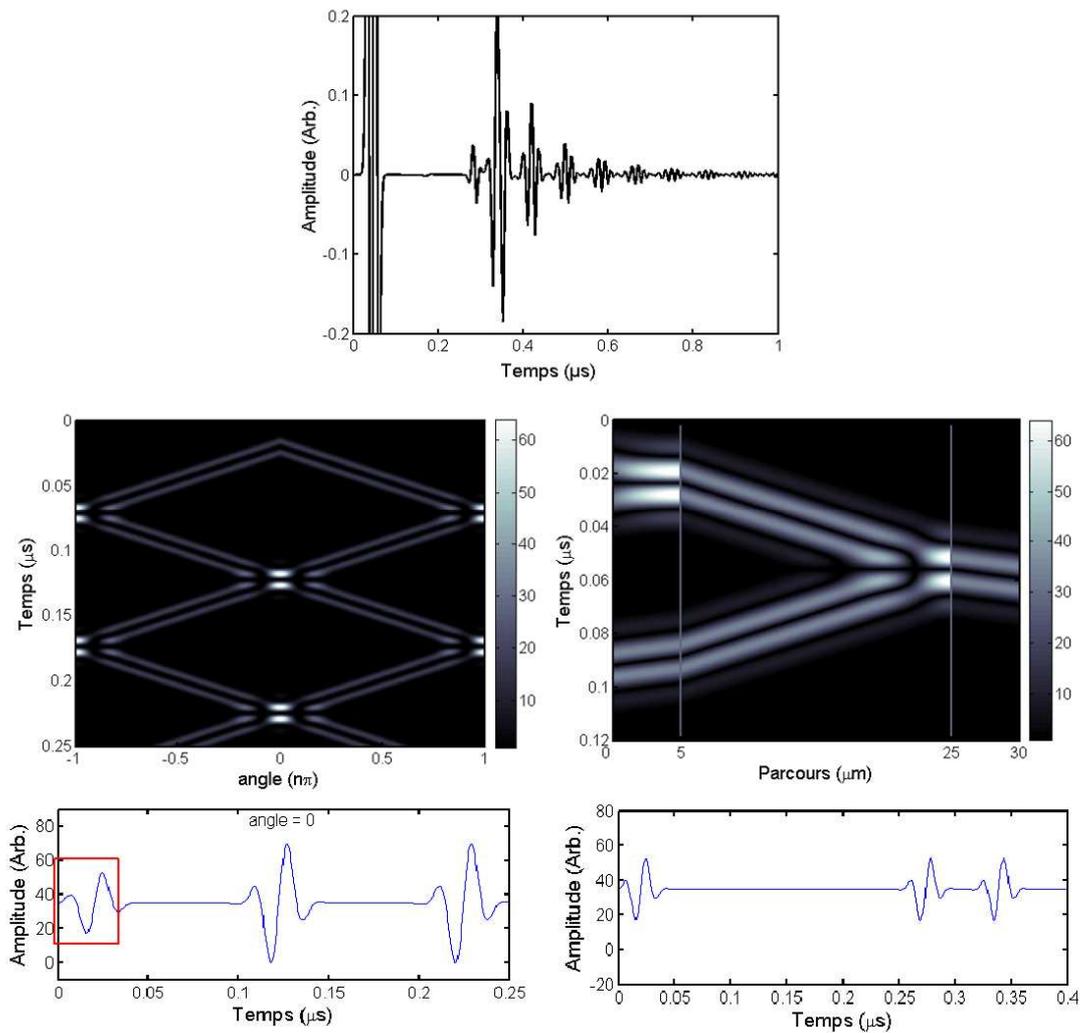


Figure 15 : Rétrodiffusion par un disque de PFOB ($T/R = 0$) de rayon $R = 10 \mu\text{m}$.

En haut : signal rétrodiffusé acquis par une barrette ponctuelle placée en $\theta = \pi$ à $d = 190 \mu\text{m}$ du centre du disque (simulation avec une carte type A, chapitre 5). À gauche au centre : diagramme d'interférence des deux ondes de surface (vitesse des ondes de surface $c_s = c_{\parallel, PFOB}$), qui se propagent en sens opposés à partir du temps d'arrivée du front d'onde (figure 3). À droite au centre : diagramme d'interférence des réflexions internes de premier ordre pour une incidence normale ($\theta_i^0 = 0$) sans avoir tenu compte des changements d'impédance aux interfaces (lignes verticales); $x = 5 \mu\text{m}$ (EAU/PFOB) et $x = 25 \mu\text{m}$ (PFOB/EAU). En bas à gauche : profil du diagramme d'interférence des ondes de surface à l'angle $\theta^s = 0$, le premier signal correspond à l'onde incidente (cadre rouge). En bas à droite : profil du diagramme d'interférence des réflexions internes à une distance équivalente à la position de la barrette réceptrice ($d = 190 \mu\text{m}$).

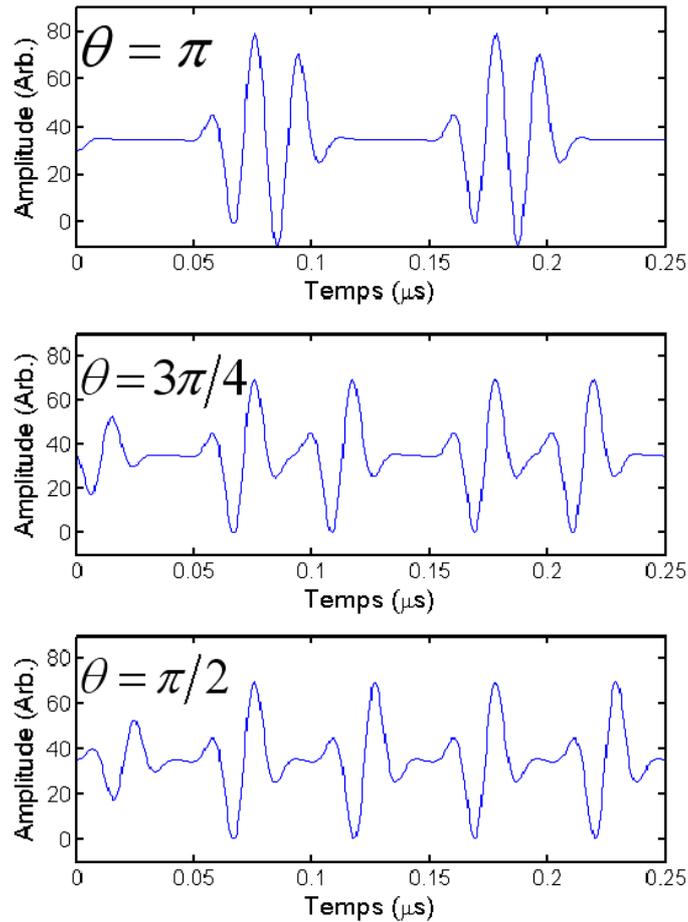


Figure 16 : Reconstruction du signal diffusé en prenant la somme des profils d'interférences des deux ondes de surface pour le disque de PFOB ($T/R = 0$) de rayon $R = 10$ mm. Le calcul considère les retards relatifs donnés par les équations 1.3. Dans le cas où le retard est nul, le décalage observé entre les échos en provenance des deux sources secondaires est dû à la différence de phase dans leur génération.

Le diagramme d'interférence des ondes de surface (figure 15, à gauche), montre des interférences bien marquées aux angles $\theta^s = \pi$ et π . L'interférence des ondes secondaires produites par de telles sources est montrée dans la figure 16, où l'on peut observer que pour un angle de diffusion de $\theta = \pi$ les échos sont séparés d'environ $0,1 \mu\text{s}$, ce qui est en accord avec les résultats des simulations (figure 15, en haut).

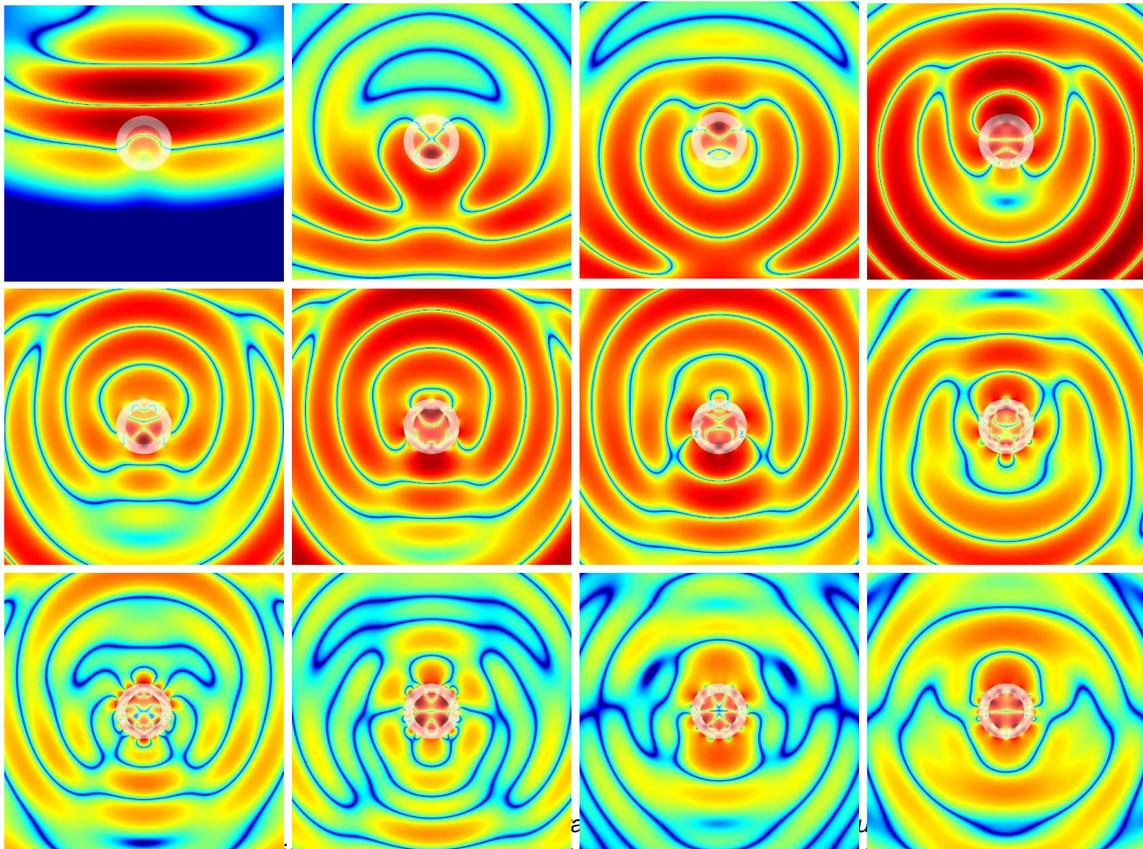
Sur la même figure 16, on observe les interférences entre échos secondaires produites par les deux sources secondaires qui arrivent aux récepteurs placés aux angles $\theta = 3\pi/4$ et $\pi/2$, en considérant le retard associé (équations 1.3). À mesure que l'angle de diffusion diminue on observe une séparation entre les échos qui forment le signal pour $\theta = \pi$ (premiers échos secondaires), cette séparation produit une diminution du temps entre le premier écho secondaire d'une des sources et le deuxième écho secondaires de l'autre source.

Les réflexions internes montrent aussi une séparation entre l'écho réfléchi par l'interface EAU/PFOB et celui réfléchi par l'interface PFOB/EAU (figure 15, à droite). Le temps de séparation entre ces deux réflexions est de l'ordre de $0,08 \mu\text{s}$.

Comme ces deux temps sont relativement plus grands que la durée de l'impulsion incidente, ces deux modèles, peuvent en principe expliquer la séparation entre les échos secondaires

observés sur le signal rétrodiffusé (figure 15, en haut). Cependant, ils n'expliquent pas la différence entre l'amplitude du premier écho diffusé secondaire et l'écho diffusé principal. La diminution graduelle de l'amplitude des échos secondaires peut être attribuée aux pertes par radiation (pas considérées dans ces calculs).

2.5 Disque isolé d'ACU de $R = 10 \mu\text{m}$ avec $T/R = 0,35$



μm (résolution $0,1 \mu\text{m}$) avec un disque d'ACU ($T/R = 0,35$) et de rayon $R = 10 \mu\text{m}$ placé au centre du domaine. La couleur rouge indique la valeur maximale (module) et le bleu la valeur minimale (passage par zéro).

Dans les premières images, on observe ici aussi la formation de points sources de haute intensité et la génération postérieure des échos diffusés secondaires sur les faces avant et arrière de la particule. Cependant, par rapport au cas précédent, on observe ici que le temps entre la formation du premier et deuxième point de haute intensité est plus court que dans le cas précédent, de façon que le deuxième point de haute intensité apparaisse déjà sur la troisième image. Ceci a pour conséquence un effet de battement de fréquence plus élevée et, à terme, de générer des ondes diffusées qui interfèrent les unes avec les autres sous forme d'un bruit de fond. On observe également qu'apparaissent rapidement sur tout le pourtour de la particule des points de haute intensité, générant un patron complexe d'onde diffusée.

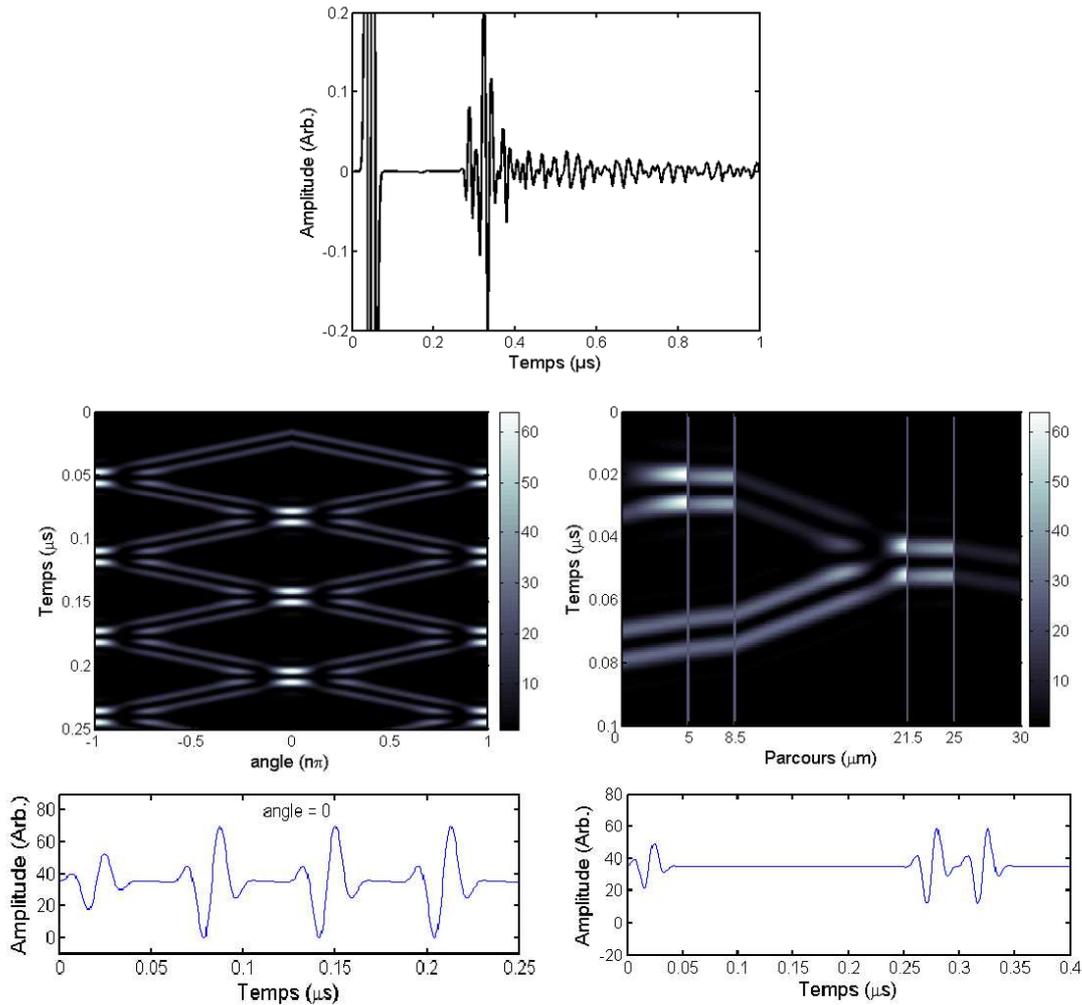


Figure 18 : *Rétrodiffusion par un disque d'ACU ($T/R = 0,35$) de rayon $R = 10 \mu\text{m}$. En haut : signal rétrodiffusé acquis par une barrette ponctuelle placée en $\theta = \pi$ à $d = 190 \mu\text{m}$ du centre du disque (simulation avec une carte type A, chapitre 5). À gauche au centre : diagramme d'interférence des deux ondes de surface (vitesse $c_s = 1 \text{ mm}/\mu\text{s}$), qui se propagent dans des sens opposés à partir du temps d'arrivée du front d'onde (figure 3). À droite au centre : diagramme d'interférence des réflexions internes de premier ordre pour une incidence normale ($\theta_i^0 = 0$) sans avoir tenu compte des changements d'impédance aux interfaces (lignes verticales) ; $x = 5 \mu\text{m}$ (EAU/PLGA), $x = 8,5 \mu\text{m}$ (PLGA/PFOB), $x = 21,5 \mu\text{m}$ (PFOB/PLGA) et $x = 25 \mu\text{m}$ (PLGA/EAU). En bas à gauche : profil du diagramme d'interférence des ondes de surface à l'angle $\theta^s = 0$, le premier signal correspond à l'onde incidente. En bas à droite : profil du diagramme d'interférence des réflexions internes à une distance équivalente à la position de la barrette réceptrice ($d = 190 \mu\text{m}$).*

Dans ce cas, on observe une diminution du temps entre les échos produits par l'interférence des ondes de surface (figure 18, à gauche) par rapport à la particule de PFOB pure. La différence de phase entre les deux ondes secondaires générée par les sources à $\theta^s = 0$ et π , et la variation de la vitesse de propagation des ondes acoustiques dans le disque, produisent alors une diminution du temps entre les échos diffusés secondaires (figure 19). Cependant, cette diminution n'a pas une amplitude suffisante pour produire des interférences destructives entre les échos secondaires (figure 19).

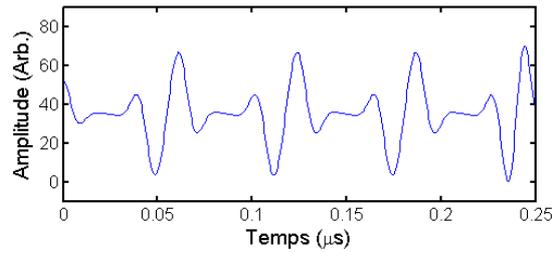


Figure 19 : Reconstruction du signal rétrodiffusé (angle de diffusion $\theta = \pi$) à partir de la somme des profils d'interférences des deux ondes de surface aux angles $\theta^s = 0$ et π pour le disque d'ACU ($T/R = 0,35$) de rayon $R = 10 \mu\text{m}$.

Les réflexions internes montrent également une diminution du temps entre l'écho principal et l'écho secondaire (figure 18, à droite), qui peut expliquer ce qui est observé dans le signal rétrodiffusé (figure 18, en haut). Cependant, ici on ne peut pas distinguer entre la réflexion à l'interface *EAU/PLGA* et celle produite à l'interface *PLGA/PFOB*.

2.6 Disque isolé de PLGA de $R = 10 \mu\text{m}$ avec $T/R = 1$

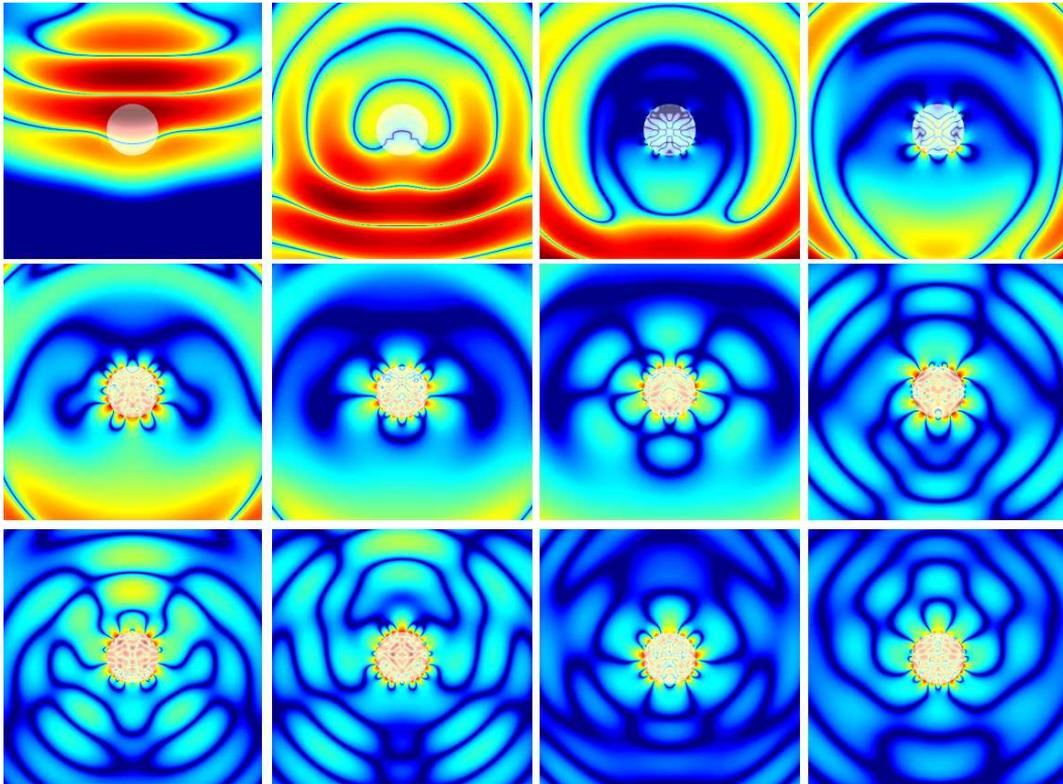


Figure 20 : Instantanés du film. Champ des contraintes (valeur absolue) pour une carte de $100 \times 100 \mu\text{m}$ (résolution $0,1 \mu\text{m}$) avec un disque de PLGA ($T/R = 1$) et de rayon $R = 10 \mu\text{m}$ placé au centre du domaine. La couleur rouge indique la valeur maximale (module) et le bleu la valeur minimale (passage par zéro).

Ici on peut constater qu'après la fin de l'écho diffusé principal, apparaissent rapidement tout autour de la particule des points de hautes intensité. Les ondes générées par ces nombreux points sources interfèrent de façon destructive et seules des ondes diffusées secondaires de faible intensité sont observées.

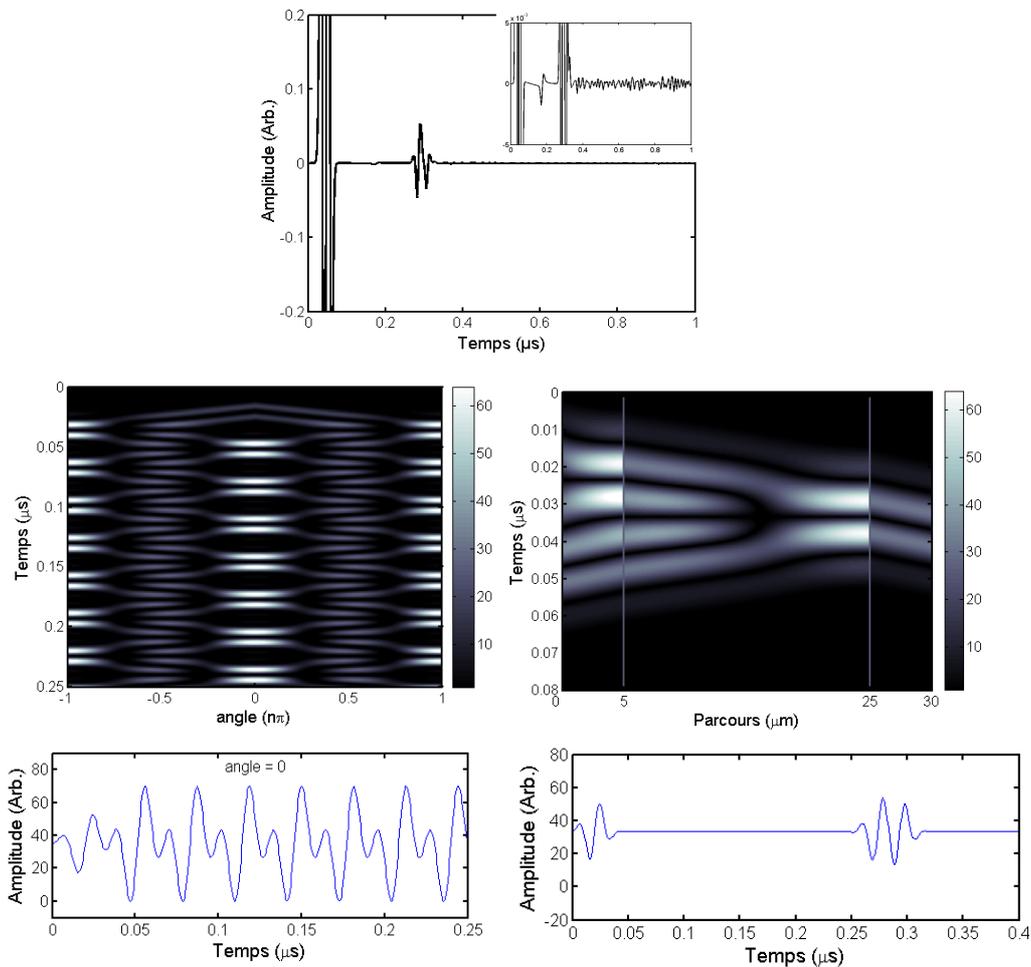


Figure 21 : Rétrodiffusion par un disque de PLGA ($T/R = 1$) de rayon $R = 10 \mu\text{m}$.

En haut : signal rétrodiffusé acquis par une barrette ponctuelle placée en $\theta = \pi$ à $d = 190 \mu\text{m}$ du centre du disque (simulation avec une carte type A, chapitre 5). À gauche au centre : diagramme d'interférence des deux ondes de surface (vitesse $c_s = c_{\text{PLGA}}$), qui se propagent en sens opposés à partir du temps d'arrivée du front d'onde (figure 3). À droite au centre : diagramme d'interférence des réflexions internes de premier ordre pour une incidence normale ($\theta_i^0 = 0$) sans avoir tenu compte des changements d'impédance aux interfaces (lignes verticales) ; $x = 5 \mu\text{m}$ (EAU/PLGA) et $x = 25 \mu\text{m}$ (PLGA/EAU). En bas à gauche : profil du diagramme d'interférence des ondes de surface à l'angle $\theta^s = 0$, le premier signal correspond à l'onde incidente. En bas à droite : profil du diagramme d'interférence des réflexions internes à une distance équivalente à la position de la barrette réceptrice ($d = 190 \mu\text{m}$).

Ce cas est très similaire au cas du disque homogène de PFOB de $3 \mu\text{m}$ de rayon (figures 5 et 6) et montre ainsi que l'augmentation la taille de la particule de 3 à $10 \mu\text{m}$ produit le même effet que celui que produit une diminution de la vitesse de propagation des ondes acoustique de 2000 à 600 m/s (d'un facteur équivalent $R_1/R_2 = c_1/c_2 = 0,3$). Le signal rétrodiffusé pour ces deux cas est aussi similaire. Cependant, dans les instantanés, on observe un comportement complètement différent.

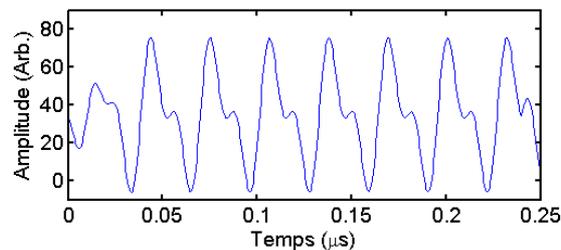


Figure 22 : Reconstruction du signal rétrodiffusé (angle de diffusion $\theta = \pi$) à partir de la somme des profils d'interférences des deux ondes de surface aux angles $\theta^s = 0$ et π et pour le disque de PLGA ($T/R = 1$) de rayon $R = 10 \mu\text{m}$.

3 Réflexions internes : coefficient de réflexion et transmission

3.1 Particule simple ($T/R = 0$ et 1)

Dans le problème des réflexions internes, et plus spécifiquement dans le cas des ondes qui ré-émergent immédiatement de l'intérieur du disque (figure 1), le calcul des coefficients de réflexion et de transmission peut être effectué facilement si les échos sont séparés, condition que seul satisfait le disque de *PFOB* ($T/R = 0$) de $R = 10 \mu\text{m}$, où on peut constater que la durée de l'impulsion incidente ($2/f_0 = 0,04 \mu\text{s}$) est plus courte que le temps de parcours $4R/c_{PFOB} = 0,065 \mu\text{s}$.

Dans les autres cas, il faut considérer les interférences entre les différents échos, calcul que nous effectuerons d'abord pour le cas d'un disque composé d'un seul matériau ($T/R = 0$ et $T/R = 1$).

Le problème se traduit alors par le calcul du coefficient de transmission dans une paroi simple d'épaisseur $L = 2R$ et impédance acoustique $Z_p = \rho_p c_p$, et est valide pour des rayons $R \leq c_p / 2f$.

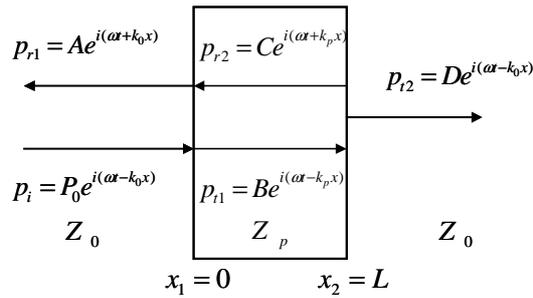


Figure 23 : Transmission et réflexion dans une paroi simple d'épaisseur $L = 2R$, composée d'un matériau d'impédance acoustique.

La continuité des pressions et vitesses de déplacement dans les deux interfaces conduit à :

Pour $x = 0$

$$P_0 + A = B + C$$

$$P_0 - A = \frac{Z_0}{Z_p} (B - C)$$

Pour $x = L$

$$B e^{-ik_p L} + C e^{ik_p L} = D e^{-ik_0 L}$$

$$B e^{-ik_p L} - C e^{ik_p L} = \frac{Z_p}{Z_0} D e^{-ik_0 L}$$

Le premier jeu d'équations conduit à :

$$P_0 = \frac{1}{2Z_p} (Z_p + Z_0) B + \frac{1}{2Z_p} (Z_p - Z_0) C$$

Les coefficients B et C sont déterminés à partir du deuxième jeu d'équations :

$$B = \frac{1}{2} \left(1 + \frac{Z_p}{Z_0} \right) D e^{-i(k_0 - k_p)L}$$

$$C = \frac{1}{2} \left(1 - \frac{Z_p}{Z_0} \right) D e^{-i(k_0 + k_p)L}$$

Si on remplace ces deux coefficients, on obtient :

$$\begin{aligned} P_0 &= \frac{D}{4Z_p Z_0} \left((Z_p + Z_0)^2 e^{ik_p L} - (Z_p - Z_0)^2 e^{-ik_p L} \right) e^{-ik_0 L} \\ &= \frac{D}{2Z_p Z_0} \left(2Z_p Z_0 \cos(k_2 L) + i(Z_p^2 + Z_0^2) \sin(k_2 L) \right) e^{-ik_0 L} \\ &= \frac{D}{2} \left(2 \cos(k_2 L) + i \left(Z_p / Z_0 + Z_0 / Z_p \right) \sin(k_2 L) \right) e^{-ik_0 L} \end{aligned}$$

Le coefficient de transmission est alors donné par :

$$T_p(R, c_p, \rho_p, c_0, \rho_0, f) = \frac{I_t}{I_i} = \frac{|D|^2}{|P_0|^2} = \frac{4}{4 \cos^2(k_p L) + (Z_p / Z_0 + Z_0 / Z_p)^2 \sin^2(k_p L)}$$

La figure 24, montre le coefficient de réflexion, $R_p = 1 - T_p$, en fonction de la taille de la particule (rayon R), composée soit de *PFOB*, soit de *PLGA*, à une fréquence de 50 MHz. On y observe que le coefficient de réflexion oscille plus fortement pour le *PFOB* que pour le *PLGA*, néanmoins, l'amplitude est relativement inférieure. Ce calcul montre qu'il existe des épaisseurs pour lesquelles le coefficient de réflexion est nul pour le *PFOB* à $R = 3 \mu\text{m}$ et pour le *PLGA* à $R = 10 \mu\text{m}$.

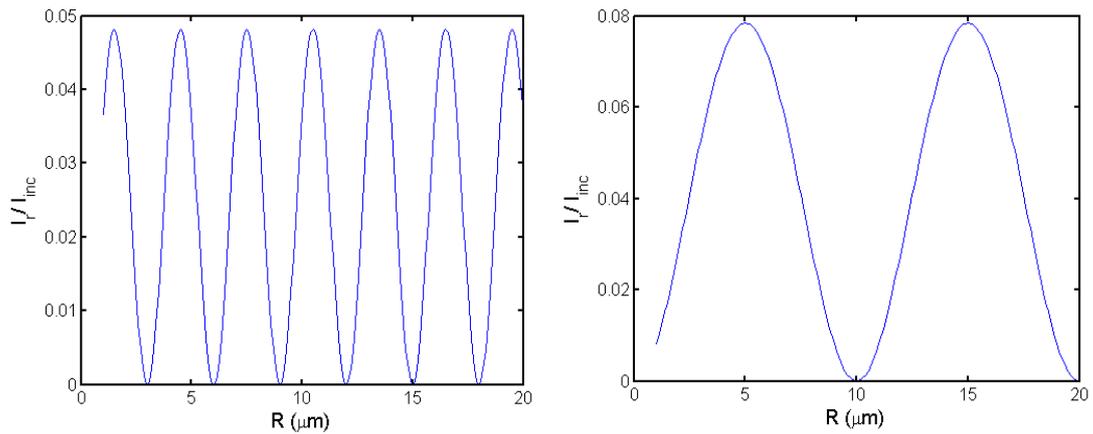


Figure 24 : Coefficient de réflexion en fonction de la taille d'une particule assimilé à une paroi simple d'épaisseur $L = 2R$. A gauche *PFOB* valide pour $R \leq 6 \mu\text{m}$. (à droite) *PLGA* valide pour $R \leq 20 \mu\text{m}$. La fréquence de l'onde (monochromatique) est de 50 MHz.

3.2 Particule mixte (ACU)

Le calcul du coefficient de transmission pour une paroi avec deux interfaces internes en $x_2 = T$ et $x_3 = 2R - T$ (voir figure 1) est similaire au précédent. Néanmoins, il est plus ardu d'en exposer leur développement ici.

Dans l'approximation des réflexions de premier ordre, à chaque interface x_i (sauf pour $x_4 = 2R$), il est nécessaire de considérer 4 ondes : l'onde incidente, l'onde réfléchie, l'onde transmise et l'onde réfléchie par l'interface suivant x_{i+1} .

$$T_p(R, T, c_1, \rho_1, c_2, \rho_2, c_0, \rho_0, f) = \frac{4}{\left[\{F_1 \cos(k_1 T) - F_2 \sin(k_1 T)\}^2 + \{F_3 \cos(k_1 T) + F_4 \sin(k_1 T)\}^2 \right]}$$

avec

$$F_1 = 2 \cos(k_1 T) \cos(2k_2 (R - T)) - \left(\frac{Z_1}{Z_2} + \frac{Z_2}{Z_1} \right) \sin(k_1 T) \sin(2k_2 (R - T))$$

$$F_2 = \left(\frac{Z_1}{Z_2} + \frac{Z_2}{Z_1} \right) \cos(k_1 T) \sin(2k_2 (R - T)) + 2 \sin(k_1 T) \cos(2k_2 (R - T))$$

$$F_3 = \left(\frac{Z_0}{Z_2} + \frac{Z_2}{Z_0} \right) \cos(k_1 T) \sin(2k_2 (R - T)) + \left(\frac{Z_0}{Z_1} + \frac{Z_1}{Z_0} \right) \sin(k_1 T) \cos(2k_2 (R - T))$$

$$F_4 = \left(\frac{Z_0}{Z_1} + \frac{Z_1}{Z_0} \right) \cos(k_1 T) \cos(2k_2 (R - T)) - \left(\frac{Z_0 Z_2}{Z_1^2} + \frac{Z_1^2}{Z_0 Z_2} \right) \sin(k_1 T) \sin(2k_2 (R - T))$$

On peut facilement vérifier cette expression en prenant les cas limites $T/R \rightarrow 0$ et $T/R \rightarrow 1$, où on arrive à l'expression du coefficient de transmission pour une paroi simple d'épaisseur $2R$ et $2T$ respectivement.

Dans notre cas, en considérant que le signal incident est un pulse de durée définie, ce calcul est valide seulement si $T \leq c_1/2f = 20 \mu\text{m}$ et $R - T \leq c_2/4f = 3 \mu\text{m}$, conditions nécessaires pour avoir des interférences dans les interfaces externes ($x_1 = 0$ et $x_4 = 2R$) et internes ($x_2 = T$ et $x_3 = 2R - T$) respectivement. Si nous fixons la taille R , ces deux conditions limitent le paramètre T/R ¹ : $1 - 3/R \leq T/R \leq 20/R$, condition qui n'est pas satisfaite pour le disque d'ACU de $R = 10 \mu\text{m}$, où $T/R \geq 0,7$. Par ailleurs, si nous fixons le paramètre T/R , la deuxième condition limite la taille du disque $R \leq 3/(1 - T/R)$, ainsi, pour $T/R = 0,35$ on obtient que $R \leq 4,6 \mu\text{m}$.

¹ Dans ce paragraphe 3 et 20 ont la dimension de μm .

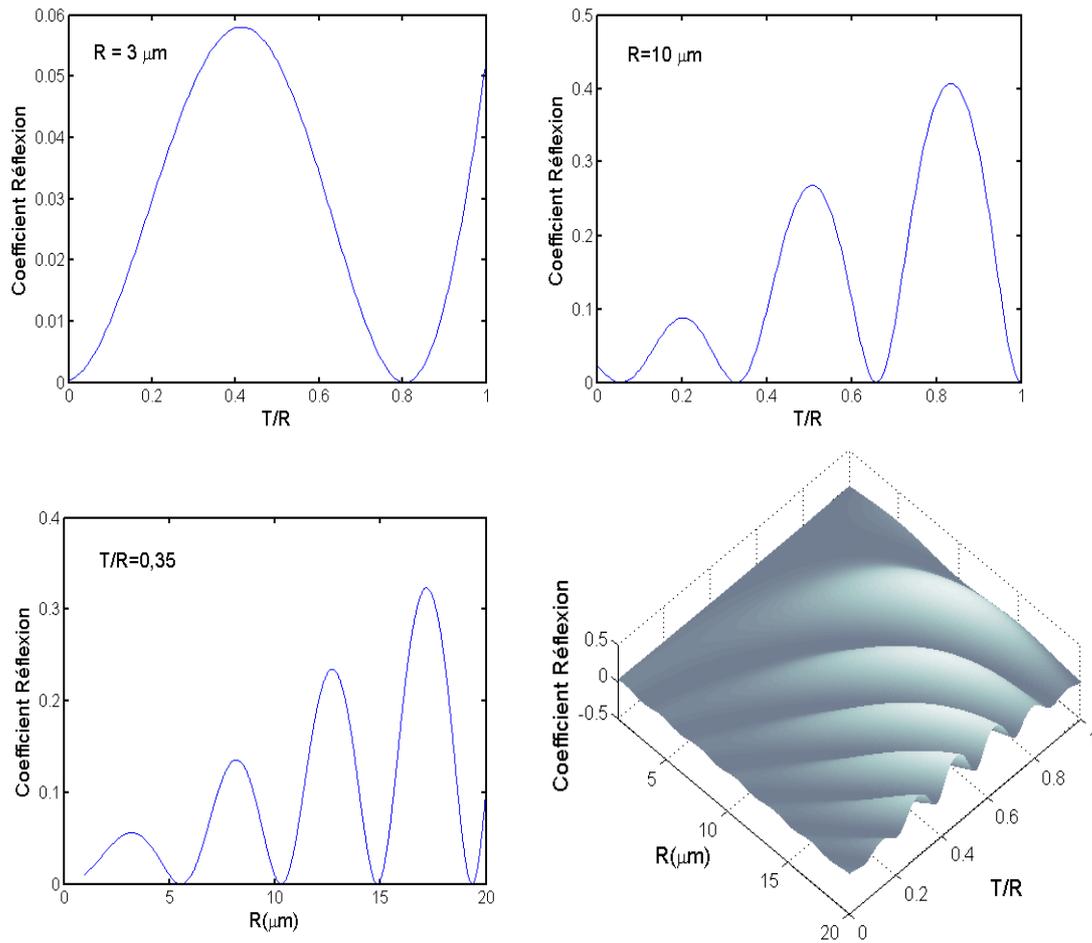


Figure 25 : Coefficient de réflexion pour une paroi mixte d'épaisseur externe $2R$ avec deux interfaces internes qui représente de façon simplifiée une particule d'ACU de rayon R et paramètre d'épaisseur T/R . La fréquence de l'onde (monochromatique) est de 50 MHz.

La figure 25 montre les valeurs du coefficient de réflexion pour une paroi mixte composée de deux parois externes de *PLGA* d'épaisseur T et une paroi interne de *PFOB* d'épaisseur $2(R - T)$, qui simule une particule d'ACU. Similairement au cas d'une paroi simple, on observe également un comportement oscillatoire du coefficient de réflexion de la particule, avec des valeurs du coefficient de réflexion positives ou nulles.

Les deux figures du haut montrent l'effet du paramètre T/R pour $R = 3$ et $10 \mu\text{m}$. Pour $R = 3 \mu\text{m}$ (à gauche), où le calcul est valable sur tout le domaine de variation de T/R , on observe des valeurs inférieures à 0,06 et un maximum de près de $T/R \approx 0,4$. Pour $R = 10 \mu\text{m}$ (à droite), on observe que les fluctuations du coefficient de réflexion sont plus fortes et que l'amplitude augmente graduellement à mesure qu'augmente le paramètre T/R , néanmoins le calcul est seul valable à partir de $T/R > 0,7$ où on observe une valeur maximum proche de 0,4 aux alentours de $T/R \approx 0,8$ et valeur presque nulle pour $T/R = 1$.

L'effet de l'épaisseur externe pour une valeur fixe du paramètre $T/R = 0,35$ est représenté sur la figure du bas à gauche. Ici le calcul est valable pour $R \leq 4,6 \mu\text{m}$, où on observe une valeur maximale de près de 0,05 pour $R \approx 3 \mu\text{m}$.

La figure en bas à droite résume les deux effets. On peut constater que les fluctuations pour $T/R = 0$ et $T/R = 1$, correspondent à celles qui sont observées sur la figure 24.

Pour la particule de $R = 3 \mu\text{m}$, l'augmentation du coefficient de réflexion pour les valeurs $T/R = 0, 0,35$ et 1 , n'est pas en accord avec ce qui est observé sur les signaux rétrodiffusés, où on observe une diminution de l'amplitude de l'écho diffusé principal au lieu d'une augmentation. En conséquence, il n'existe pas une relation directe entre le coefficient de réflexion et le coefficient de rétrodiffusion sur la base des modèles proposés. Pour les particules de $R = 10 \mu\text{m}$, les calculs effectués ici sont seulement valides pour T/R supérieur à $0,7$, ce qui limite la possibilité de comparer correctement nos résultats. Cependant, on observe que pour $T/R = 1$ le coefficient de réflexion devient nul, ce qui est cohérent avec la figure 16, où on observe une extinction presque totale des échos diffusés secondaires.

4 Discussion

D'une manière générale, les deux modèles permettent d'expliquer l'apparition d'échos secondaires séparés, observés pour les particules de grandes tailles avec cœur de *PFOB* ($R = 10 \mu\text{m}$, $T/R = 0$ et $0,35$). Cependant, ils n'expliquent pas de façon satisfaisante le comportement des signaux rétrodiffusés résiduels observés dans les autres cas. D'une part, le manque de connaissance des valeurs réelles de la vitesse des ondes de surface, ne permet pas d'avoir une totale certitude sur la véracité de ces résultats. D'autre part, pour le cas des réflexions internes, l'explication des signaux résiduels nécessiterait de considérer les réflexions d'ordre plus élevés ainsi que les réflexions internes multiples, mais surtout, les effets de la courbure de ces interfaces.

Par ailleurs, les calculs des coefficients de réflexion, montrent que pour certaines valeurs de R et T/R , il existe une transmission totale de l'énergie incidente (valeurs nulles du coefficient de réflexion), en expliquant ainsi l'extinction des échos diffusés secondaires ($R = 10 \mu\text{m}$, $T/R = 1$). Cependant, vu que ces calculs ne sont valables que pour certaines valeurs de R et T/R , et que, de plus, ils ne considèrent pas l'effet de la courbure des interfaces correspondant à la forme sphérique de la particule, il n'est pas possible de les utiliser de façon satisfaisante pour interpréter les résultats obtenus dans les simulations.

5 Conclusions

Dans l'état actuel, les deux modèles sont incomplets. Il est par conséquent difficile de dire lequel est le plus adéquate pour expliquer la forme du train des échos secondaires. Cependant, comme le modèle d'ondes de surface est plus simple et n'incorpore pas d'approximations de l'acoustique géométrique (figure 2), nous croyons qu'il est le plus adapté. Cependant, il nous manque de connaître de façon précise la vitesse d'ondes de surface. De plus, dans la méthode utilisée pour reconstruire la forme du train d'échos secondaires il serait nécessaire d'introduire les sources secondaires qui se forment le long de toute l'interface particule/milieu (figure 9, à gauche centre), ainsi que de considérer les effets liés à l'interface cœur/capsule dans le cas des particules d'*ACU* (figure 17).

